(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2009-508109
(P2009-508109A)
(43)公表日　平成21年2月26日(2009.2.26)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
G01N 33/72	(2006.01)	G01N	33/72	A	2G045
G01N 33/483	(2006.01)	G01N	33/483	C	2G054
G01N 21/78	(2006.01)	G01N	21/78	Z	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 16 頁）

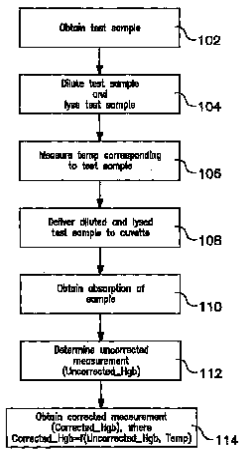
(21)出願番号　特願2008-530076 (P2008-530076)
(86)(22)出願日　平成18年8月23日 (2006.8.23)
(85)翻訳文提出日　平成20年3月6日 (2008.3.6)
(86)国際出願番号　PCT/US2006/032897
(87)国際公開番号　WO2007/030325
(87)国際公開日　平成19年3月15日 (2007.3.15)
(31)優先権主張番号　11/222,457
(32)優先日　平成17年9月8日 (2005.9.8)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　507316789
ベックマン　コールター，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９２８３４，　フラートン，　エヌ．　ハーバー　ブールバード　４３００，　メール　コード　エー－４２－シー
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】温度変動によるヘモグロビン補正の方法

(57)【要約】
血液の試験サンプルのヘモグロビンパラメータを測定する方法は、試験サンプルを希釈し、溶解するステップを含む。次に、試験サンプルに対応する温度を求める。次に、希釈され、溶解された試験サンプルはキュベットに送られ、分光光度計によってキュベット内のサンプルの吸光度および／または透過率が決定される。試験サンプルの吸光度および／または透過率を用いて、試験サンプルのヘモグロビンパラメータの第一の測定を行う。ヘモグロビンパラメータの第一の測定を行った後、プロセッサによって試験サンプルの補正ヘモグロビンパラメータの測定値が決定される。補正測定値は、試験サンプルに対応する測定温度と第一のヘモグロビンパラメータの測定値との関数である。ヘモグロビンパラメータを測定する方法は、試験サンプル温度のある範囲で有効である。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
試験サンプルの血液学パラメータを測定する方法であって、該方法は、
ａ）該試験サンプルに対応する温度を測定することと、
ｂ）該試験サンプルの該血液学パラメータの第一の測定値を得ることと、
ｃ）該測定温度での、該サンプルの該血液学パラメータの補正測定値を決定することであって、該補正測定値は、該測定温度と該血液学パラメータの該第一の測定値との関数である、ことと
を含む、方法。
【請求項２】
自動血液学分析装置は、前記サンプルの前記血液学パラメータの前記第一の測定値を得るために使用される、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記血液学パラメータはヘモグロビン濃度である、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
ステップａ）の前に、前記試験サンプルを反応容器の中で溶解するステップをさらに含み、該試験サンプルに対応する温度を測定する前記ステップは、該反応容器に対応する温度を測定するステップを含む、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
前記反応容器に対応する前記温度は、該反応容器の外側の温度である、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
前記反応容器に対応する前記温度は、該反応容器の内部の温度である、請求項４に記載の方法。
【請求項７】
ステップａ）の前に、前記試験サンプルをキュベットへ送達するステップをさらに含み、
該試験サンプルに対応する温度を測定する前記ステップは、該キュベットに対応する温度を測定するステップを含む、請求項１に記載の方法。
【請求項８】
前記試験サンプルに対応する温度は周辺気温である、請求項１に記載の方法。
【請求項９】
ステップａ）の前に、前記試験サンプルを希釈剤で希釈するステップをさらに含み、該試験サンプルに対応する温度を測定する前記ステップは、該希釈剤に対応する温度を測定するステップを含む、請求項１に記載の方法。
【請求項１０】
前記関数は、６０°Ｆと９０°Ｆとの間の試験サンプル温度の範囲で有効な線形関数である、請求項１に記載の方法。
【請求項１１】
試験サンプルのヘモグロビンパラメータを測定する自動血液学分析装置であって、該自動血液学分析装置は、
ａ）試験サンプルを受け入れることができるキュベットと、
ｂ）該キュベットに向かって光を照射できる光源と、
ｃ）該キュベットを通過する、光源からの光の量を検出でき、該ヘモグロビンパラメータの第一の測定値を提供できる検出部と、
ｄ）該試験サンプルに対応する温度を測定できる温度センサーと、
ｅ）該ヘモグロビンパラメータの補正測定値を決定できるプロセッサであって、該補正測定値は、該第一の測定値と該運転温度との関数である、プロッセサと
を含む、自動血液学分析装置。
【請求項１２】

前記キュベット、光源、検出部は分光光度計の一部として提供される、請求項１１に記載の自動血液学分析装置。
【請求項１３】
前記プロセッサは分光光度計と同じ筐体の内部に収容される、請求項１２に記載の自動血液学分析装置。
【請求項１４】
前記自動血液学分析装置は、反応容器を含み、前記測定温度は該反応容器の温度である、請求項１１に記載の自動血液学分析装置。
【請求項１５】
前記測定温度は前記キュベットの温度である、請求項１１に記載の自動血液学分析装置。
【請求項１６】
前記測定温度は周辺気温である、請求項１１に記載の自動血液学分析装置。
【請求項１７】
前記ヘモグロビンパラメータはヘモグロビン濃度である、請求項１１に記載の自動血液学分析装置。
【請求項１８】
サンプル温度のヘモグロビンパラメータを測定する方法であって、該方法は、
ａ）試験サンプルを自動血液学分析装置に提供するステップと、
ｂ）該試験サンプルを希釈し、溶解するステップと、
ｃ）該希釈され、溶解された試験サンプルに対応する温度を測定するステップと、
ｄ）該測定温度での該試験サンプルの該ヘモグロビンパラメータの第一の測定値を得るステップと、
ｅ）該ヘモグロビンパラメータの補正測定値を決定するステップであって、該補正測定値は該第一のヘモグロビン測定値と該測定温度との関数である、ステップと
を含む、方法。
【請求項１９】
前記補正測定値は、標準温度と少なくとも一つの補正係数との関数でもある、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
前記補正係数は、前記自動血液学分析装置の較正温度の関数である、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
前記ヘモグロビンパラメータは、ヘモグロビン濃度である、請求項１８に記載の方法。
【請求項２２】
運転温度でサンプルのヘモグロビンパラメータを測定する自動血液学分析装置であって、該自動血液学分析装置は、
ａ）該運転温度での該サンプルの該ヘモグロビンパラメータの第一の測定値を得る手段と、
ｂ）該運転温度を測定する手段と、
ｃ）該運転温度での該ヘモグロビンパラメータの補正測定値を計算する手段であって、該補正測定値は、該第一のヘモグロビン測定値と該運転温度との関数である、計算する手段と
を含む、自動血液学分析装置。
【請求項２３】
前記ヘモグロビンパラメータはヘモグロビン濃度である、請求項２２に記載の自動血液学分析装置。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】

本発明は血液学の分野に関し、特に、自動血液学分析装置の分野に関する。

【背景技術】

【０００２】

（背景）

一般的な医学的診断では、患者の血液サンプルを採取し、そのサンプルを各種の血液学パラメータに関して検査する。例えば、患者の血液サンプルは、赤血球数、血小板数、白血球数、白血球の種類、ヘマトクリットおよび／またはヘモグロビン濃度を測定するために検査し、分析されるかもしれない。数多くのその他の血液学パラメータもまた、測定し分析されることがある。

【０００３】

血液検査と分析によって明らかになる患者の血液のパラメータは、医師が診断を下す上で、大きな助けとなることがある。例えば、白血球数の増加は、体内の感染症の存在を示唆することがある。白血球濃度のある程度の増加は、様々な症状、例えば白血病を示唆することがある。赤血球数が多いことは、患者は酸素を十分に吸入していないことを示唆することがあり、肺疾患や心臓疾患などの症状を示唆する可能性がある。赤血球数が少ないことは、患者が貧血であることを示すことがある。

【０００４】

ヘモグロビンは、赤血球に存在する主要な物質である。ヘモグロビンは酸素を運搬し、血液を赤くしている。ヘモグロビンの情報は、医師が診断を下す際に使用しうる一つのパラメータである。例えば、血液中のヘモグロビンの量は、血液が患者の体のすみずみまで酸素を運搬する能力をよく表す指標である。高いヘモグロビン値は、多くの要因、例えば肺疾患、心臓疾患、または腎臓疾患に起因する可能性がある。低いヘモグロビン値は貧血を示唆することがある。ヘモグロビンパラメータはまた、特定の治療、例えばヘモグロビンに影響を与える疾患を標的とする治療などに対する、患者の反応性を検討する上でも有用である。ヘモグロビン値の分析に加えて、体内の様々な種類のヘモグロビンについて分析が行われることがある。正常なヘモグロビンには三種類しかないが、三百を超える異常なヘモグロビンの種類が、特定の臨床症状を持つ患者で発見されている。異常ヘモグロビン種は、各種の症状および／または疾患を示唆することが多い。

【０００５】

現在、ヘモグロビン濃度などのヘモグロビンパラメータを含む、患者の血液の様々な血液学パラメータを測定するのに、自動血液学分析装置が使用されている。これらの自動血液学分析装置は、白血球数、赤血球数、血小板数、ヘモグロビン濃度を含む、多くの血液学パラメータを分析することができる。

【０００６】

ヘモグロビン濃度を測定する場合は、自動血液学分析装置は血液サンプルを受け取り、まず希釈剤でそのサンプルを希釈する。次に、サンプル中の赤血球を溶解するために、溶血試薬を希釈したサンプルに加える。希釈サンプルを溶解すると、サンプル中のヘモグロビンがメトヘモグロビンに変換される。次に、紫外線分光法を用いて所定の波長で検出し測定できる、比較的安定な色素原を形成するために、メトヘモグロビンを複合体化する。

【０００７】

溶解した試験サンプル中の色素原の産生後、試験サンプルをヘモグロビン吸収キュベットに通す。キュベットの片側に向けられた光源から、キュベットを通して光が照射される。希釈サンプル中の色素原の吸収ピークの、またはその付近の（例えば、５４０ｎｍ）の波長で、光源は光を照射する。キュベットの反対側に設置された検出部が、キュベットとサンプルを通過する光を検出するために使用される。検出部と光は、キュベットとサンプルを通過する光の吸収量（または透過率）を測定できる、分光光度計またはその他の機器の一部分としてもたらされてもよい。次に、検出部によって得られた吸収量の測定値を、サンプルに対する対応するヘモグロビン濃度に変換する。サンプルの最終ヘモグロビン濃度測定値を導き出すために、この変換されたヘモグロビン濃度に自動血液学分析装置の較正係数を乗じる。

【０００８】
血液サンプルのヘモグロビン測定が行われる温度は、そのような血液サンプルのヘモグロビン測定値に影響を及ぼすことが知られている。これに関しては、希釈サンプルと溶血試薬の反応で産生される色素原は、その環境に対する感受性を避けられるほど十分に安定していないことが、重要な理由の一つである。結果として、色素原の吸収は温度とともに変動する。色素原の吸収は温度とともに変動するため、単一のサンプルから得られるヘモグロビン測定が、測定を行う時のサンプルの温度によって異なる可能性がある。しかし、他の血液学パラメータに加えて、細胞の大きさ、数、部分母集団の分布も温度とともに変動する可能性があることから、温度とともに変動する血液学パラメータは、ヘモグロビンだけではないことを理解するべきである。

【０００９】
温度に伴う変動に加えて、ヘモグロビン濃度とその他の血液学パラメータは時間とともに変動する可能性がある。ヘモグロビン濃度の場合は、溶血反応から産生される色素原の吸収は時間とともに減衰する。従って、血液学測定、例えばヘモグロビン濃度を得ようとする場合は、通常は、溶解したサンプルが定常状態の温度に達するのを待つことは好ましくない。それどころか、吸収量の測定は、希釈サンプルと溶血試薬の反応後比較的速やかに行われなくてはならない。測定は比較的速やかに行われなければならないため、もしも正確なヘモグロビン濃度を望むのであれば、溶解し、希釈したサンプルの温度の変動に対処するために、何らかの試みを行われなければならない。

【００１０】
残念なことに、反応直後に、単一の安定した温度で色素原を溶血反応から産生するのは容易ではない。例えば、ヘモグロビンを溶解するのに用いる溶血試薬は、異なる反応温度をもたらすことが多く、これらの反応温度は時間とともに変動する。さらに、実験室の周辺気温が反応温度に影響を与える可能性がある。

【００１１】
温度変動によるヘモグロビン測定値の変動を避けようとして、いくつかの従来技術のシステムや方法が提案され、使用されている。しかし、これらのシステムや方法を用いた時に、引き続き著しい温度変動が見られ、異なるヘモグロビン測定値につながったことから、これらの従来のシステムや方法では満足のいく結果は出なかった。

【００１２】
ヘモグロビン測定における温度の影響を少なくするために提案された一つの方法は、温度とともに著しく変動することのない、例えば、特許文献１に開示されるもののような安定性の高い色素原を提供するために、高い親和性を持つ溶血試薬に対するリガンドを選択するステップを伴う。ヘモグロビン測定への温度の影響を少なくする別の方法は、例えば、特許文献２に開示されるもののようなヘモグロビン安定剤を使用するステップを伴う。しかし、これらの方法はどちらも、それらがもたらす結果同様、追加コストに関しても満足いくものではなかった。

【００１３】
ヘモグロビン測定における温度変動の影響を少なくするために、従来技術の方法の別の例に較正法がある。較正法は現在流通している自動血液学分析装置の多くで用いられている。この方法は、自動血液学分析装置によって測定された、最初の未較正のヘモグロビン測定値が、設計公差や環境因子、また機器の固有の特性など、様々な要因のために常に正確ではないことを認識している。この方法を用いると、まず、自動血液学分析装置によって最初の未較正ヘモグロビン測定値が得られる。次に、較正ヘモグロビン測定値に到達するために、この未較正測定値に較正係数を乗じる（例えば、Hgb_{Final}＝較正係数＊$Hgb_{Uncalibrated}$）。通常、較正係数は実証的検定によって決定され、販売前の機器にプログラムされる。同一の較正係数が、その機器を用いて行われる全てのヘモグロビン測定、または特定の温度運転範囲内で行われるヘモグロビン測定に適用される。較正方法は、測定温度についてのスケーリングを提供するが、通常は、これらの同様の変動は全ての測定、または測定の全範囲にあてはまるものであって、温度のある範囲で

の温度変動を説明する正確な変動ではない。従って、ヘモグロビンを正確に測定しようとする場合には、温度較正方法がもたらす結果は一般的には満足のいくものではない。

【００１４】

さらに、ヘモグロビン測定における温度変動の影響を少なくする、従来技術の方法の別の例には温度制御法がある。温度制御法は、温度制御装置が内蔵された自動血液学分析装置の使用を伴う。そのような自動血液学分析装置内の温度制御装置は通常、自動血液学分析装置を用いる全てのヘモグロビン測定が、ほぼ同じ温度で測定されるように、ヘモグロビン反応温度を既定の温度まで温める。残念なことに、自動血液学分析装置内に温度制御装置を内蔵することにはいくつかの問題がある。例えば、温度制御装置を内蔵すると、機器に多大なコストを付加し、これは後に販売価格の上昇となって機器の購入者へと転嫁される。さらに、温度制御装置によって機器が大きくなるが、実験室の環境にとってスペースは価値のある資源であることが多い。さらに、温度制御装置を加える場合、追加のパーツが機械の中に組み込まれ、これにより機械が故障しやすく、修理を必要としがちになる。さらに、温度制御装置があったとしても、ヘモグロビン反応温度が頻繁に変動する可能性、または予想よりも高い可能性があり（例えば、既定温度より高くなる）、結果として温度制御装置が温度を既定温度まで安定化させる前に行われる測定となるため、測定結果が常に正確であるわけではない。

【特許文献１】米国特許第５，７６３，２８０号明細書

【特許文献２】米国特許第５，９６８，８３２号明細書

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【００１５】

従って、サンプルの様々な血液学パラメータ、例えばヘモグロビン濃度を様々なサンプル温度で正確に測定でき、温度制御装置を必要としない、自動血液学分析装置を提供することが望ましい。

【課題を解決するための手段】

【００１６】

（発明の概要）

血液試験サンプルのヘモグロビンパラメータ、例えばヘモグロビン濃度を測定する方法が本明細書で開示される。この方法は、自動血液学分析装置の装填デッキに、測定する試験サンプルを提供することを含む。自動血液学分析装置は、試験サンプルを反応容器の中で希釈し、溶解させることができる。次に、試験サンプルに対応する温度が得られる。試験サンプルに対応する温度は、試験サンプルを希釈し、溶解した直後の反応容器の温度であってもよい。しかし、試験サンプルの温度に対応する、多くの他の温度を求めてもよい。その後、希釈され、溶解された試験サンプルをキュベットに移し、分光光度計によってキュベット内のサンプルの吸光度および／または透過率を測定する。試験サンプルの吸光度および／または透過率から、試験サンプルの第一のヘモグロビンパラメータの測定値が得られる。第一のヘモグロビンパラメータの測定値を得た後、プロセッサが試験サンプルの補正されたヘモグロビンパラメータの測定値を決定する。補正された測定値は、試験サンプルに対応する測定された温度とヘモグロビンパラメータの第一の測定値との関数である。ヘモグロビンパラメータを測定する方法は、試験サンプル温度の範囲にわたって有効である。

【発明を実施するための最良の形態】

【００１７】

図１を参照すると、自動血液学分析装置１０がブロックダイヤグラム形式で示されている。自動ヘモグロビン分析装置１０は、温度変動による補正ヘモグロビン測定値を提供することができる。分析装置１０には、装填台１２、サンプル分配器１４、反応チャンバー１６、温度センサー１７、試薬タンク１８、分光光度計２０、廃液容器２２、プロセッサ２４、入出力装置が含まれる。

【００１８】

装填台１２は、患者の血液の試験サンプルが入った試験バイアル／試験管を受け入れるように設計されている。装填台はバイアルを受け入れ、その内容物をサンプル分配器１４に送る。サンプル分配器は、少なくとも第一の分注と第二の分注にサンプルを分ける。第一の分注は、白血球数とヘモグロビン濃度を測定できる自動血液学分析装置の一部分にある、反応チャンバー１６へ送られる。第二の分注は、赤血球数と血小板数を測定できる自動血液学分析装置の別の部分（図示せず）に送られる。図１では、第一の分注を処理し、ヘモグロビン濃度を測定する、自動血液学分析装置の一部分が図示されている。

【００１９】

血液サンプルが分注された後、第一の分注は反応チャンバー１６に送られる。通常、反応チャンバーは第一の分注の大きさと比べると相対的に大きい。例えば、一つの実施形態では、約２８μｌの分注は、容量が７，０００μｌから１０，０００μｌの反応チャンバーに送られる。反応チャンバー１６内で、多量の希釈剤および／または溶血試薬が試験サンプルに加えられるため、反応チャンバーは相対的に大きい。例えば、２８ｍｌの試験サンプルは、反応チャンバー１６内で約６，０００μｌの希釈剤と約１，０００μｌの溶解剤と混合されてもよい。試薬タンク１８は反応チャンバー１６とつながっており、希釈剤および／または溶血試薬を、必要な時に反応チャンバー１６に送ることができる。

【００２０】

温度センサー１７は反応チャンバーとつながっており、反応チャンバーの温度を測定できる。一つの実施形態では、温度センサーはサーミスタである。しかし、温度センサーは、精密かつ正確な温度計測を提供できる、任意の数のその他の種類の温度センサー、例えば抵抗温度測定器（ＲＴＤ）、温度計、ＩＲ温度計、熱電温度計であってもよい。温度センサー１７によって測定された温度は、何らかの様式で試験サンプルに対応する。図１の実施形態では、反応チャンバー１６の温度は、分光光度計に送られる前の、希釈され、溶解された試験サンプルの温度の良い指標であるため、温度センサー１７によって測定された温度は試験サンプルに対応する。しかし、温度センサーで測定する温度は、他の場所で測定してもよく、それでもなお試験サンプルの温度に対応する。一つの実施形態では、温度センサーは、反応チャンバーに加えられる前の希釈剤の温度を測定する。この実施形態では、希釈剤の量は、混合される試験サンプルの量よりもはるかに多いため、希釈剤の温度は試験サンプルの温度に対応する。別の実施形態では、温度センサーは、自動血液学分析装置が設置された実験室の周辺気温を測定する。この実施形態では、周辺気温は試験サンプルの温度に対応し、少なくとも希釈剤が、そして、場合によっては試験サンプルは周辺気温、またはその付近の温度である。さらに別の実施形態では、キュベットの温度は、希釈され、溶解された試験サンプルの温度に対応することから、温度センサーは比色計のキュベットの温度を測定する。

【００２１】

反応チャンバーは、分光光度計２０、または血液学パラメータが測定可能なその他の機器、例えばその他の市販光度計に、内容物を送るように設計されている。この目的を達成するために、分光光度計２０は希釈され、溶解された試験サンプルの吸光度、透過率、および／またはその他の特性を測定できる。次に、測定された特性は血液学パラメータについて対応する測定値に変換される。

【００２２】

分光光度計には、光源２１ａ、キュベット２１ｂ、検出部２１ｃが含まれる。吸収または透過率計測を導き出すために、試験サンプルをキュベットに通し、キュベットと通過する試験サンプルとを通るように光源が光を照射する。キュベットの反対側にある検出部によって、試験サンプルの吸光度および／または透過率の計測が行われる。試験サンプルの吸光度および／または透過率計測値を血液学測定値に変換するために、参照テーブルを使用し、計測値を血液学測定値に関連させる。プロセッサ２４とメモリ２５によってこれが行われる。

【００２３】

図１の実施形態では、プロセッサ２４とメモリ２５は自動血液学分析装置の一部として

含まれる。しかし、プロセッサとメモリは、多くの異なる形態、吸光度および／または透過率計測値を未補正の血液学測定値、例えばヘモグロビン濃度に変換できる、接続されたパソコンまたはその他の機器内のプロセッサであってもよい。この実施形態では、プロセッサはＰｅｎｔｉｕｍ（登録商標）　ＩＶまたはその他の市販のマイクロプロセッサであってもよい。プロセッサ２４はメモリ２５とともに、未補正の血液学測定値を測定し、補正血液学パラメータに変換でき、この補正血液学パラメータは未補正の血液学測定値と温度センサー１７によって測定された温度測定値とに基づいている。この補正血液学測定値は、温度に起因する、未補正の血液学測定値の不正確さを補正し、試験サンプルで測定される血液学パラメータをより正確に測定できる。

【００２４】

プロセッサ２４は入出力装置２６、例えばＬＥＤ表示スクリーンとキーボードにつながっている。図１の実施形態では、入出力装置は自動血液学分析装置１０に含まれる。しかし、入出力装置は、自動血液学分析装置に電気的に接続された周辺機器、例えばモニターとキーボードを備えたパソコンなどであってもよい。希釈され、溶解された試験サンプルをキュベットに通した後、サンプルは廃液チャンバー２２に送られる。廃液チャンバーは、適切な廃棄物処理のために、使用済み試験サンプルが蓄積される、相対的に大きい容器である。

【００２５】

図２を参照して、自動血液学分析装置１０の操作を一連のステップとしてここで説明する。ステップ１０２に示すように、まず、自動血液学分析装置は、患者の血液の試験サンプルを装填台で受け取る。分配された後、ステップ１０４で、分注されたうちの一つの試験サンプルは反応チャンバーに送られ、希釈剤で希釈される。希釈剤は、希釈剤に添加された溶血試薬を含んでもよいか、あるいは溶血試薬は、希釈された後のサンプルに加えられてもよい。いずれにしても、試験サンプルに添加される溶血試薬は色素原を産生し、色素原によって分光光度計が試験サンプルの吸光度および／または透過率の値を測定できる。溶血試薬と試験サンプルの反応直後に、ステップ１０６で、試験サンプルに対応する温度を測定する。一つの実施形態では、測定される温度は、反応チャンバーの温度であり、これは反応チャンバー内の、希釈され、溶解された試験サンプルの温度を示す。測定温度は、プロセッサに送られた後に使用される。

【００２６】

ひとたび試験サンプルが希釈され、溶解されると、ステップ１０８で、キュベットに通される。上述のように、一つの実施形態では、キュベットは分光光度計またはその他の測定機器の一部分である。ステップ１１０で、分光光度計は試験サンプルの吸光度および／または透過率を測定する。次に、ステップ１１２で、この測定値はプロセッサに伝えられ、ここで吸光度／透過率の測定値に基づいて、プロセッサが未補正ヘモグロビン測定値を決定する。一つの実施形態では、メモリに保存されている参照テーブルを用いて、プロセッサは未補正ヘモグロビン測定値を決定する。特に、未補正ヘモグロビン測定値を導き出すために、プロセッサは、単に試験サンプルについて求められた吸収量測定値を、参照テーブル中の対応するヘモグロビン測定値を導き出すために用いる。

【００２７】

未補正ヘモグロビン測定値が決定された後は、ステップ１１４で、プロセッサは補正ヘモグロビン測定値を得る。補正ヘモグロビン測定値は、ステップ１１２で得られた未補正ヘモグロビン測定値と、ステップ１０６で測定される温度との関数である。

【００２８】

未補正ヘモグロビン測定値と測定温度との関数である、補正ヘモグロビン値の式を導き出すために、異なる温度でのヘモグロビンの変動の詳しい測定値を、複数の患者について記録した。異なる患者に関する、異なる温度でのヘモグロビン測定値を用いて、データから複数の数学関数を回帰する。これらの関数には、線形関数と非線形関数の両方が含まれた。

【００２９】

広い温度範囲で正確な結果をもたらした、例となる三次の数学関数の一つは、以下の式（１）であった。

$$Hgb_{Corrected}=Hgb_{Uncorrected}+a_3(T_{Measured}-T_{Ref})^3+a_2(T_{Measured}-T_{Ref})^2+a_1(T_{Measured}-T_{Ref}) \quad (1)$$

ここで、

$Hgb_{Corrected}$はヘモグロビン濃度の補正測定値に対応し、

$Hgb_{Uncorrected}$はヘモグロビン濃度の未補正測定値に対応し、

$T_{Measured}$は運転温度に対応し、

T_{Ref}は参照温度に対応し、

a_3、a_2、a_1は、三次、二次、一次の定数に対応する。

【００３０】

上記の式（１）では、参照温度は７５°Ｆであった。さらに、一次定数、二次定数および三次定数は全て、式を回帰するために実験的方法により決定された。

【００３１】

前述のように、上記の式は広い温度範囲で正確な補正ヘモグロビン計測値をもたらした。しかし、非線形系は、十分に小さい範囲で与えられる線形系で近似されてもよいことがよく知られている。今回の場合は、６０°Ｆから９０°Ｆの測定温度について、線形関数は正確な結果をもたらすことができることが見出された。この場合、補正ヘモグロビンを決定するために用いられる線形関数は、以下のように決定された。

$$Hgb_{Corrected}=(Cal_Factor)*[Hgb_{Uncorrected}+(Corr_Factor_1)*(T_{measured}-T_{standard})] \quad (2)$$

ここで、

$Hgb_{Corrected}$は補正ヘモグロビン測定値であり、

Cal_Factorは既定の較正係数であり、

$Hgb_{Uncorrected}$は未補正ヘモグロビン測定値であり、

$Corr_Factor_1$は既定の補正係数であり、

$T_{measured}$は試験サンプルに対応する測定温度であり、

$T_{standard}$は測定温度が逸れ得る、「標準」または参照温度である。

【００３２】

上記の式（２）によると、較正係数、補正係数、$T_{standard}$は全て既定の値である（式の既定の定数）。既定の定数に加えて、上記の数学関数を決定するために、異なる温度でのヘモグロビン変動の詳しい測定を、複数の患者について記録した。異なる患者に関する、異なる温度のヘモグロビン測定値を用いて、データから数学関数を回帰し、補正係数（$Corr_Factor_1$）、参照温度（$T_{standard}$）、較正係数（Cal_Factor）を実験的に決定した。較正係数（Cal_Factor）を決定するときは、以下のパラグラフで説明するように、参照温度と補正係数だけでなく正常な温度較正に関する温度計測値を値に含まなければならない。

【００３３】

上記の実施形態での較正係数の値は、較正に関する既知のヘモグロビンアッセイを用いて決定される。較正係数は、較正温度、参照温度、および／または補正係数に依存し得る。故に、一つの実施形態では、較正係数は以下の式（３）に従って決定される。

$$Cal_Factor=Hgb_{known_assay}/[(Hgb_{measured_assay})(T_{calibration})+Corr_Factor_2*(T_{calibration}-T_{standard}) \quad (3)$$

ここで、

Hgb_{known_assay}は、較正アッセイに関する既知のヘモグロビン量であり、

$Hgb_{measured_assay}$は較正アッセイに関する測定されたヘモグロビンであり、

$Corr_Factor_2$は既定の補正係数であり、
$T_{calibration}$は較正中の測定温度であり、
$T_{standard}$は、較正温度が逸れ得る、「標準」または参照温度である。

【００３４】

上記でもたらされた非線形式（１）と線形式（２）は、補正ヘモグロビン測定値を導き出すために使用してもよい、二つの代表的な式にすぎない。上述のように、両方の場合において、未補正ヘモグロビン測定値と測定温度との関数である、補正ヘモグロビン測定値がもたらされる。補正ヘモグロビン測定値に関する上記で説明した式は、限定することを意図するものではなく、実験的なデータから回帰された関数の例として提供されている。未補正ヘモグロビン値と測定温度とのその他多くの関数を補正ヘモグロビン値の結果を導くために用いることができる。

【００３５】

以下の実施例は、本明細書で説明する、温度補正によるヘモグロビン補正の方法の実例であり、特許請求の範囲で定義されるように、決して本発明を限定するものとして解釈されるべきではない。

【実施例】

【００３６】

３０の血液サンプルについて、Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒの自動血液学分析装置を用いてヘモグロビン濃度を測定した。３０の血液サンプルを、Ｌｙｓｅ　Ｓ（登録商標）　ＩＩＩを用いて希釈し、溶解した。３０の血液サンプルのそれぞれについて、７０°Ｆから８８°Ｆの範囲のいくつかの異なる温度でヘモグロビン濃度を測定した。ヘモグロビン濃度測定を行う直前に、自動血液学分析装置の反応チャンバーで温度を測定した。未補正ヘモグロビン測定値を得た後、補正ヘモグロビン測定値を本明細書で説明する方法を用いて得た。未補正および補正のヘモグロビン結果の両方を、下記の表に示すとおり記録した。下記の表１は、測定された３０のサンプルについての、未補正ヘモグロビン濃度測定を提供する。下記の表２は、測定された３０のサンプルについての、補正ヘモグロビン濃度を提供する。

【００３７】

【表１】

表１－未補正Hgb

サンプルID	Trialyse 70F	Trialyse 75F	Trialyse 80F	Trialyse 85F	Trialyse 88F
1	15.05	14.89	14.57	14.47	14.23
2	14.56	14.3	14.02	13.85	13.68
3	13.69	13.5	13.21	13.17	12.92
4	14.58	14.22	14.01	13.84	13.67
5	15.07	14.91	14.61	14.49	14.31
6	14.84	14.72	14.38	14.15	13.99
7	14.83	14.53	14.41	14.21	14.01
8	15.3	15.19	14.86	14.6	14.48
9	15.13	14.88	14.75	14.52	14.34
10	13.72	13.48	13.29	13.17	12.96
11	15.13	14.85	14.43	14.51	14.27
12	13.74	13.55	13.39	13.21	12.97
13	13.17	12.88	12.79	12.64	12.4
14	14.03	13.82	13.71	13.47	13.26
15	12.76	12.53	12.36	12.26	12.01
16	15.49	15.33	15.08	14.85	14.74
17	12.3	12.15	11.93	11.82	11.45
18	15.25	15.06	14.84	14.68	14.51
19	12.44	12.43	12.15	12.04	11.9
20	15.27	15.07	14.79	14.6	14.4
21	12.45	12.24	12.01	11.85	11.68
22	14.5	14.3	14.2	13.99	13.87
23	13.94	13.72	13.53	13.34	13.08
24	13.53	13.32	13.1	12.92	12.8
25	15.11	14.98	14.78	14.49	14.37
26	14.67	14.52	14.3	14.06	13.87
27	14.46	14.28	14.12	13.94	13.75
28	14.06	13.9	13.67	13.5	13.32
29	12.37	12.14	11.97	11.67	11.58
30	13.66	13.56	13.38	13.07	12.95

【００３８】

【表２】

表２－補正Hgb

サンプルID	Trialyse 70F	Trialyse 75F	Trialyse 80F	Trialyse 85F	Trialyse 88F
1	14.845	14.89	14.775	14.88	14.763
2	14.355	14.3	14.225	14.26	14.213
3	13.485	13.5	13.415	13.58	13.453
4	14.375	14.22	14.215	14.25	14.203
5	14.865	14.91	14.815	14.9	14.843
6	14.635	14.72	14.585	14.56	14.523
7	14.625	14.53	14.615	14.62	14.543
8	15.095	15.19	15.065	15.01	15.013
9	14.925	14.88	14.955	14.93	14.873
10	13.515	13.48	13.495	13.58	13.493
11	14.925	14.85	14.635	14.92	14.803
12	13.535	13.55	13.595	13.62	13.503
13	12.965	12.88	12.995	13.05	12.933
14	13.825	13.82	13.915	13.88	13.793
15	12.555	12.53	12.585	12.67	12.543
16	15.285	15.33	15.285	15.26	15.273
17	12.095	12.15	12.135	12.23	11.983
18	15.045	15.06	15.045	15.09	15.043
19	12.235	12.43	12.355	12.45	12.433
20	15.065	15.07	14.995	15.01	14.933
21	12.245	12.24	12.215	12.26	12.213
22	14.295	14.3	14.405	14.4	14.403
23	13.735	13.72	13.735	13.75	13.613
24	13.325	13.32	13.305	13.33	13.333
25	14.905	14.98	14.985	14.9	14.903
26	14.465	14.52	14.505	14.47	14.403
27	14.255	14.28	14.325	14.35	14.283
28	13.855	13.9	13.875	13.91	13.853
29	12.165	12.14	12.175	12.08	12.113
30	13.455	13.56	13.585	13.48	13.483

上記の表のデータを、図３Ａと図３Ｂにグラフで示す。図３Ａは、３０の血液サンプルについての、未補正ヘモグロビン濃度の結果を示す。図３Ａでは、横軸は、試験サンプルに対応する、自動血液学分析装置内で測定された温度を表し、この場合は、測定の直前の反応チャンバーの温度である。縦軸はヘモグロビン濃度の測定結果を表す。図３Ａ中のそれぞれの線は、単一のサンプルについて測定されたヘモグロビン濃度が、どのようにサンプルに対応する温度に従って変動するかを示す。

【００３９】

図３Ｂは、本明細書で説明する方法を用いた、補正ヘモグロビン濃度の結果を示す。ここでも、横軸は測定温度を表す。しかし、縦軸は、測定されたヘモグロビン濃度と測定温度との関数として得られた、補正ヘモグロビン濃度を表す。図３Ｂからわかるように、補正ヘモグロビン結果は、測定温度に関わらず非常に安定している。

【００４０】

本発明を特定の好適な実施形態について説明したが、他の実施形態や改変が可能であることを当業者は理解するだろう。例えば、使用するリガンドや希釈剤の配合量に応じて、それぞれが異なる式定数をもたらす、異なる溶血試薬を用いてもよい。さらに、上記で説明したその他の態様を組み込まずに得られてもよい、個々の本明細書で説明する進展に利点がある。従って、添付の特許請求の範囲の精神と範囲は、本明細書に含まれる好適な実施形態の説明に限定されるべきではない。

【図面の簡単な説明】

【００４１】

【図１】図１は、自動血液学分析装置の概略図を示す。

【図２】図２は、図１の自動血液学分析装置について補正ヘモグロビン測定値を提供するために行われる一連のステップのブロックダイヤグラムを示す。

【図３Ａ】図３Ａは、一群の血液サンプルの未補正ヘモグロビン濃度の結果のグラフを示す。

【図３Ｂ】図３Ｂは、本明細書で説明する方法を用いて、図３Ａの血液サンプルから求められる、補正ヘモグロビン濃度のグラフを示す。

【図１】

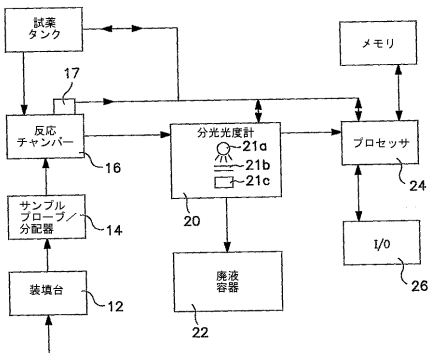


FIG. 1

【図２】

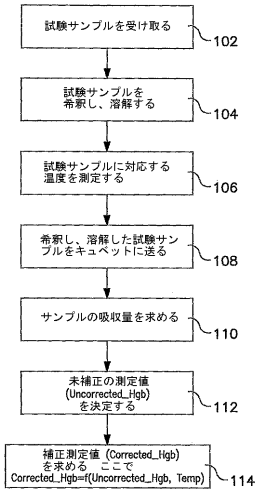


FIG. 2

【図３Ａ】

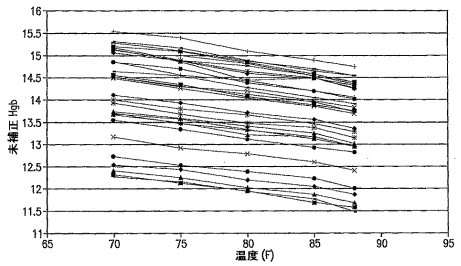


FIG. 3A

【図３Ｂ】

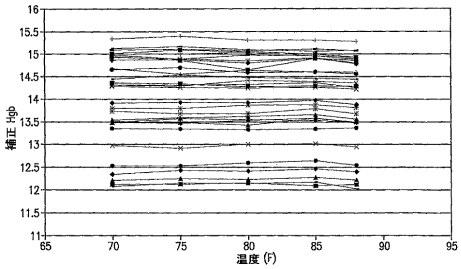


FIG. 3B

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 06/32897

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8): G01N 33/72 (2007.01)
USPC: 436/66
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
USPC: 436/66

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
GOOGLE SCHOLAR, GOOGLE PATENT and WEST (PGPB,USPT,EPAB,JPAB): hemoglobinometer, hemoglobin, temperature, spectrophotometer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,968,832 A (UCHIHASHI et al.) 19 October 1999 (19.10.1999); col 1, ln 9-12; col 2, ln 5-11; col 6, ln 6-11	1-23
Y	US 3,549,994 A (ROTHERMEL et al.) 22 December 1970 (22.12.1970); col 23, ln 30-42; col 24, ln 41-47; col 28, ln 34-45	1-23
Y	US 4,013,417 A (ITALO) 22 March 1977 (22.03.1977); col 1, ln 1-4 and 53-56	1-23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
20 May 2007 (20.05.2007)	25 SEP 2007
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ホー, ジリン
アメリカ合衆国 フロリダ ３３１７６, マイアミ, エス. ダブリュー. １２４ ロード １１０１０
(72)発明者 リー, ウィリアム ダブリュー.
アメリカ合衆国 フロリダ ３３１５７, マイアミ, エス. ダブリュー. １７１ テラス ９１２０
(72)発明者 チエン, チェン
アメリカ合衆国 フロリダ ３３１９６, マイアミ, エス. ダブリュー. １５６ プレイス １１２８３

Ｆターム(参考) 2G045 DA51 FA11 GC10
2G054 AA07 CA21 CB01 CD01 CE02 EA06 FA06 JA08