

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 3 区分

【発行日】平成30年3月29日 (2018.3.29)

【公開番号】特開2014-12860(P2014-12860A)

【公開日】平成26年1月23日 (2014.1.23)

【年通号数】公開・登録公報2014-004

【出願番号】特願2013-218840(P2013-218840)

【国際特許分類】

C 1 1 D 3/48 (2006.01)

C 1 1 D 3/386 (2006.01)

C 1 1 D 3/34 (2006.01)

C 1 1 D 3/10 (2006.01)

C 1 1 D 3/33 (2006.01)

【F I】

C 1 1 D 3/48

C 1 1 D 3/386

C 1 1 D 3/34

C 1 1 D 3/10

C 1 1 D 3/33

【誤訳訂正書】

【提出日】平成30年2月15日 (2018.2.15)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

血液分析器において細菌、酵母菌および真菌の増殖を抑制するための洗浄剤組成物であって、

(a) 界面活性剤であって、前記界面活性剤が  $1 \text{ g/l} \sim 30 \text{ g/l}$  の範囲の濃度である、界面活性剤、

(b) イソチアゾロン化合物 5 - クロロ - 2 - メチル - 4 - イソチアゾリン - 3 - オン、1, 2 - ベンゾイソチアゾリン - 3 - オンおよび 2 - メチル - 4 - イソチアゾリン - 3 - オンの組み合わせであって、前記イソチアゾロン化合物が、 $0.03 \text{ g/l} \sim 0.8 \text{ g/l}$  の範囲の濃度である、組み合わせ、

(c) タンパク質分解酵素、

(d) アルカリ金属塩、および

(e) 前記洗浄剤組成物の pH を  $8 \sim 10$  の範囲に維持するための緩衝剤

の水溶液を含み、

前記洗浄剤組成物が、 $1 \text{ ppm}$  以下のホルムアルデヒド濃度を有し、

前記アルカリ金属塩がアルカリ金属ハロゲン化物、アルカリ金属ギ酸塩、またはこれらの組合せであり、前記アルカリ金属塩が、 $1 \text{ g/l} \sim 16 \text{ g/l}$  の範囲の濃度を有する、洗浄剤組成物。

【請求項 2】

前記界面活性剤が非イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤、またはこれらの組合せである、請求項 1 に記載の洗浄剤組成物。

【請求項 3】

前記タンパク質分解酵素がスブチリシンである、請求項 1 に記載の洗浄剤組成物。

【請求項 4】

前記スブチリシンが、 $0.15 \mu\text{g/ml} \sim 500 \mu\text{g/ml}$  の範囲の濃度である、請求項 3 に記載の洗浄剤組成物。

【請求項 5】

血液分析器を洗浄する方法であって、

(a) 請求項 1 に記載の前記洗浄剤組成物を血液分析器に供給するステップと、

(b) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器の各部分に供給するステップであって、前記各部分が、血液サンプルの分析時に、前記血液サンプルおよび 1 つまたは複数の試薬によって形成されるサンプル混合物と接触するステップと、

(c) 前記各部分を前記洗浄剤組成物に一定期間にわたって接触させるステップと、

(d) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器から洗い流すステップと

を含む方法。

【請求項 6】

前記緩衝剤が、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、ホウ酸、グリシルグリシン、グリシン、トリスヒドロキシメチルアミノエタン、N - トリス(ヒドロキシメチル)メチル - 2 - アミノエタンスルホン酸、N - 2 - ヒドロキシエチルピペラジン - N' - 2 - エタンスルホン酸、N - 2 - ヒドロキシエチルピペラジン - N' - 3 - プロパンスルホン酸、2 - (N - シクロヘキシルアミノ)エタンスルホン酸、ピペラジン - 1, 4 - ビス(2 - エタンスルホン酸)、もしくは 3 - ((トリス(ヒドロキシメチル)メチル)アミノ)プロパンスルホン酸、またはこれらの組合せである、請求項 1 に記載の洗浄剤組成物。

【請求項 7】

前記界面活性剤が、2 つの非イオン界面活性剤の組合せ、または非イオン界面活性剤と陰イオン界面活性剤との組合せである、請求項 2 に記載の洗浄剤組成物。

【請求項 8】

前記血液分析器が、血液分析装置、フローサイトメータ、または臨床化学分析器である、請求項 5 に記載の方法。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】血液分析器を洗浄するためのホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物およびその使用法

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、自動化血液分析器を洗浄するための洗浄剤組成物、およびその使用法に関し、特に、実質的にホルムアルデヒド分のない洗浄剤組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

効果的な洗浄試薬および洗浄手順は、血液サンプル、または血液サンプルと血液の分析に使用される試薬の混合物に接触する機器の構成要素を洗浄し、分析器を適切な動作状態に維持するために、自動化および半自動化血液分析器に必要である。たとえば自動化血液分析装置における血液サンプルの分析の際、全体の血液サンプルは、測定の前に、機器上で様々な試薬を使って処理される。一般に、全体の血液サンプルの一定部分は、浸透圧希釈剤で希釈して、赤血球および血小板測定用のサンプル混合物を形成する。全体の血液サ

ンプルの別の一定部分は、溶解試薬と混合されて、白血球およびヘモグロビン測定用の第2のサンプル混合物を形成し、赤血球は溶解される。血液サンプルおよび試薬のこれらのサンプル混合物は、タンパク質、および溶解した細胞膜の破片を含む。これらの材料は、血液サンプルの分析時に、サンプル混合物と接触する一定の機器構成要素の表面に沈殿する可能性がある。さらに、これらの物質は、試薬中の一定の化学物質とともに不溶性複合体も形成し、機器構成要素の表面に沈殿する可能性がある。効果的な洗浄を定期的に行わない場合、アパーチャ、および赤血球計算に使用されるフローセルの周囲、およびサンプル混合物に接触する管類の壁部に沿って沈殿物が蓄積する可能性がある。その結果、アパーチャまたはフローセルの部分的または完全な閉塞を生じ、機器が動作不能になる可能性がある。

#### 【0003】

酵素洗浄試薬は、先行技術で公知であり、タンパク質および血液の破片を酵素反応により分解する際に効果的である。界面活性剤は、一般に、破片および大きい有機分子を分解または分散させるために、洗浄試薬に使用される。

#### 【0004】

抗菌剤は、一般に、細菌、真菌、および酵母菌などの微生物の増殖を抑制し、試薬生成物の保存寿命、品質、および性能を保証するために、保存料として洗浄試薬に使用される。さらに、生物体の増殖は、機器構成要素の汚染を生じ、さらに、システムの性能を妨げる可能性があるため、機器の内部、たとえば、流体供給システムの試薬管類およびその他の部品の内部における微生物の増殖を防止することも重要である。たとえば、生物体は血球として数えられる可能性があるか、または誤ったフラグgingを生じる可能性があり、これは、血液サンプル中の異常な血液型の存在を示す。

#### 【0005】

一般に使用されている大多数の抗菌剤は、ホルムアルデヒドを含むか、または保存時にホルムアルデヒドを放出するホルムアルデヒド放出物質である。これらのホルムアルデヒド放出物質は、強力な抗菌剤であり、水溶液中における生物体の増殖を抑制する際に非常に効果的である。しかし、機器の排水を通して放出される洗浄試薬中に含まれるホルムアルデヒドは、近年、環境問題を生じている。

#### 【0006】

過去10年間では、公共、産業、および医療廃棄物分に対する規制は、一定の化学物質がヒトの健康、および/または環境を脅かすことが分かるにつれて増加している。カリフォルニア州およびマサチューセッツ州など、いくつかの州における規制機関は、廃棄物分の許可量に対する新たな規則を実施した。ホルムアルデヒドは、これらの2つの州で廃棄物中で制限されている化学物質の1つである。新しい規制によると、廃棄物中のホルムアルデヒド濃度が1 ppm以下の場合、ホルムアルデヒドを含まないと考えられる。

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0007】

したがって、ホルムアルデヒドを含まない洗浄試薬であって、血液分析器を効果的に洗浄し、保存時に安定性があり、環境を破壊しない洗浄試薬に対する強い必要性が存在する。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0008】

##### （発明の要旨）

一実施態様では、本発明は、ホルムアルデヒドを含まず、水溶液中に1つまたは複数の界面活性剤、および1つまたは複数の非ホルムアルデヒド放出抗菌剤を含む洗浄剤組成物を目的とする。洗浄剤組成物は、タンパク質分解酵素、アルカリ金属塩、および洗浄剤組成物のpHを約7～約12、好ましくは約8～約10の範囲に保つための緩衝剤をさらに含む。洗浄剤組成物は、1 ppm以下のホルムアルデヒド濃度を有する。

#### 【0009】

好ましくは、組成物を保存し、血液分析器の維持を支援するために、イソチアゾロン化合物を抗菌剤として使用し、より好ましくは、2つ以上のイソチアゾロン化合物を洗浄剤組成物中に使用する。好ましくは、界面活性剤は非イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤、またはこれらの組合せであり、タンパク質分解酵素はスブチリシンである。

【0010】

さらに他の実施態様では、本発明は、血液分析器を洗浄する方法であって、ホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物を血液分析器に供給するステップと、血液サンプルの分析時に、血液サンプルおよび1つまたは複数の試薬によって形成されるサンプル混合物と接触する血液分析器の各部分に洗浄剤組成物を供給するステップと、各部分を一定期間にわたって洗浄剤組成物に接触させるステップと、洗浄剤組成物をすすぎ洗いし、血液分析器から除去するステップとを含む方法を目的とする。血液分析器は、血液分析装置、フローサイトメータ、または臨床化学分析器を備える。

【0011】

本発明の利点は、以下のとおり本発明の詳細な説明、添付の請求の範囲から明らかになるであろう。

例えば、本願発明は以下の項目を提供する。

(項目1)

ホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物であって、

- (a) 界面活性剤、
- (b) 非ホルムアルデヒド放出抗菌剤、
- (c) タンパク質分解酵素、
- (d) アルカリ金属塩、および
- (e) 前記洗浄剤組成物中のpHを約7～約12の範囲に維持するための緩衝剤

の水溶液を含み、

前記洗浄剤組成物が、1ppm以下のホルムアルデヒド濃度を有する洗浄剤組成物。

(項目2)

前記少なくとも1つの非ホルムアルデヒド放出抗菌剤がイソチアゾロン化合物である、項目1に記載の洗浄剤組成物。

(項目3)

前記イソチアゾロン化合物が、約0.03g/l～約0.8g/lの範囲の濃度である、項目2に記載の洗浄剤組成物。

(項目4)

前記界面活性剤が非イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤、またはこれらの混合物である、項目1に記載の洗浄剤組成物。

(項目5)

前記タンパク質分解酵素がスブチリシンである、項目1に記載の洗浄剤組成物。

(項目6)

前記スブチリシンが、約0.15μg/ml～約500μg/mlの範囲の濃度である、項目5に記載の洗浄剤組成物。

(項目7)

前記アルカリ金属塩が、アルカリ金属ハロゲン化物、アルカリ金属ギ酸塩、またはこれらの組合せである、項目1に記載の洗浄剤組成物。

(項目8)

前記アルカリ金属塩が、約1g/l～約16g/lの範囲の濃度を有する、項目7に記載の洗浄剤組成物。

(項目9)

第2非ホルムアルデヒド放出抗菌剤をさらに含む、項目1に記載の洗浄剤組成物。

(項目10)

血液分析器を洗浄する方法であって、

- (a) 項目1に記載の前記ホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物を血液分析器に

供給するステップと、

(b) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器の各部分に供給するステップであって、前記各部分が、前記血液サンプルの分析時に、血液サンプルおよび1つまたは複数の試薬によって形成されるサンプル混合物と接触するステップと、

(c) 前記部分を前記洗浄剤組成物に一定期間にわたって接触させるステップと、

(d) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器から洗い流すステップと

を含む方法。

(項目11)

ホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物であって、

(a) 1つまたは複数の界面活性剤、

(b) 少なくとも2つの非ホルムアルデヒド放出抗菌剤、

(c) タンパク質分解酵素、

(d) アルカリ金属塩、および

(e) 前記洗浄剤組成物のpHを約7～約12の範囲に維持する緩衝剤

の水溶液を含み、実質的にホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物。

(項目12)

前記2つの非ホルムアルデヒド放出抗菌剤がイソチアゾロン化合物である、項目11に記載の洗浄剤組成物。

(項目13)

前記洗浄剤組成物が、1ppm以下のホルムアルデヒド濃度を有する、項目11に記載の洗浄剤組成物。

(項目14)

前記タンパク質分解酵素がスブチリシンである、項目11に記載の洗浄剤組成物。

(項目15)

前記界面活性剤が、非イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤、またはこれらの混合物である、項目11に記載の洗浄剤組成物。

(項目16)

前記アルカリ金属塩が、アルカリ金属ハロゲン化物、アルカリ金属ギ酸塩、またはこれらの組合せである、項目11に記載の洗浄剤組成物。

(項目17)

前記緩衝剤が、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、ホウ酸、グリシルグリシン、グリシン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノエタン、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-2-アミノエタンスルホン酸、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-3-プロパンスルホン酸、2-(N-シクロヘキシルアミノ)エタンスルホン酸、ピペラジン-1,4-ビス(2-エタンスルホン酸)、もしくは3-((トリス(ヒドロキシメチル)メチル)アミノ)プロパンスルホン酸、またはこれらの組合せである、項目11に記載の洗浄剤組成物。

(項目18)

血液分析器を洗浄する方法であって、

(a) 項目11に記載のホルムアルデヒドを含まない前記洗浄剤組成物を血液分析器に供給するステップと、

(b) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器の各部分に供給するステップであって、前記各部分が、前記血液サンプルの分析時に、前記血液サンプルおよび1つまたは複数の試薬によって形成されるサンプル混合物と接触するステップと、

(c) 前記部分を前記洗浄剤組成物に一定期間にわたって接触させるステップと、

(d) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器から洗い流すステップと

を含む方法。

(項目19)

ホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物であって、

(a) 1つまたは複数の界面活性剤、

- (b) 第1イソチアゾロン化合物、
- (c) 第2イソチアゾロン化合物、
- (d) 第3イソチアゾロン化合物

の水溶液を含み、

実質的にホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物。

(項目20)

前記洗浄剤組成物が、1 ppm以下のホルムアルデヒド濃度を有する、項目19に記載の洗浄剤組成物。

(項目21)

前記第1イソチアゾロン化合物が、5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、またはこれらの誘導体である、項目19に記載の洗浄剤組成物。

(項目22)

前記第2イソチアゾロン化合物が1,2-ベンゾイソチアゾリン-3-オン、またはこれらの誘導体である、項目19に記載の洗浄剤組成物。

(項目23)

前記第2イソチアゾロン化合物が2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、またはこれらの誘導体である、項目19に記載の洗浄剤組成物。

(項目24)

前記界面活性剤が、2つの非イオン界面活性剤の組合せ、または非イオン界面活性剤と陰イオン界面活性剤との組合せである、項目19に記載の洗浄剤組成物。

(項目25)

血液分析器を洗浄する方法であって、

(a) 項目19のホルムアルデヒドを含まない前記洗浄剤組成物を血液分析器に供給するステップと、

(b) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器の各部分に供給するステップであって、前記各部分が、前記血液サンプルの分析時に、血液サンプルおよび1つまたは複数の試薬によって形成されるサンプル混合物と接触するステップと、

(c) 前記部分を前記洗浄剤組成物に一定期間にわたって接触させるステップと、

(d) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器から洗い流すステップと

を含む方法。

(項目26)

タンパク質分解酵素、アルカリ金属ギ酸塩、アルカリ金属ハロゲン化物、および前記洗浄剤組成物のpHを約7~約12の範囲に維持する緩衝剤をさらに含む、項目19に記載の洗浄剤組成物。

(項目27)

前記タンパク質分解酵素がスブチリシンである、項目26に記載の洗浄剤組成物。

(項目28)

前記緩衝剤が、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、ホウ酸、グリシルグリシン、グリシン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノエタン、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-2-アミノエタンスルホン酸、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-3-プロパンスルホン酸、2-(N-シクロヘキシルアミノ)エタンスルホン酸、ピペラジン-1,4-ビス(2-エタンスルホン酸)、または3-((トリス(ヒドロキシメチル)メチル)アミノ)プロパンスルホン酸、またはこれらの組合せである、項目26に記載の洗浄剤組成物。

(項目29)

血液分析器を洗浄する方法であって、

(a) 項目26に記載のホルムアルデヒドを含まない前記洗浄剤組成物を血液分析器に供給するステップと、

(b) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器の各部分に供給するステップであって、前記各部分が、前記血液サンプルの分析時に、血液サンプルおよび1つまたは複数の試薬に

よって形成されるサンプル混合物と接触するステップと、

(c) 前記部分を前記洗浄剤組成物に一定期間にわたって接触させるステップと、

(d) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器から洗い流すステップと

を含む方法。

(項目30)

血液分析器を洗浄する方法であって、

(a) ホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物を血液分析器に供給するステップであって、前記洗浄剤組成物が、1つまたは複数の界面活性剤、および1つまたは複数の非ホルムアルデヒド放出抗菌剤の水溶液を含み、1ppm以下のホルムアルデヒド濃度を有するステップと、

(b) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器の各部分に供給し、前記各部分が、前記血液サンプルの分析時に、血液サンプルおよび1つまたは複数の試薬によって形成されるサンプル混合物と接触するステップと、

(c) 前記各部分を前記洗浄剤組成物に一定期間にわたって接触させるステップと、

(d) 前記洗浄剤組成物を前記血液分析器から洗い流すステップと

を含む方法。

(項目31)

前記血液分析器が、血液分析装置、フローサイトメータ、または臨床化学分析器である、項目30に記載の方法。

【発明を実施するための形態】

【0012】

(発明の詳細な説明)

一実施態様では、本発明は、ホルムアルデヒドを含まず、1つまたは複数の界面活性剤、および1つまたは複数の非ホルムアルデヒド放出抗菌剤を含む水性洗浄剤組成物を提供する。好ましくは、洗浄剤組成物は、タンパク質分解酵素、1つまたは複数のアルカリ金属塩、および洗浄剤組成物のpHを約7～約12の範囲に保つための緩衝剤をさらに含む。洗浄剤組成物は、実質的にホルムアルデヒドを含まない。好ましい実施態様では、洗浄剤組成物は、1百万分率(ppm)以下のホルムアルデヒド濃度を有する。

【0013】

本明細書で使用する「実質的にホルムアルデヒドを含まない」という用語は、画定されたHPLC分析方法(EPAメソッド8315A)によって検定した場合、水性組成物のホルムアルデヒド濃度が1ppm以下であると規定する環境保護庁(EPA)のホルムアルデヒドを含まないという定義に、水性組成物のホルムアルデヒド濃度が適合することを意味する。

【0014】

本発明の洗浄剤組成物に適する界面活性剤は、非イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤、またはこれらの組合せを含む。非イオン界面活性剤の適切な実施例としては、エトキシ化アルキルフェノール、エトキシ化アルキルアルコール、またはこれらの組合せが挙げられるが、これらだけに限らない。好ましくは、エトキシ化アルキルアルコールは、8～18個の炭素原子、および10～40モルのエチレンオキシドを有する線形アルキル基を有し、エトキシ化アルキルフェノールは、6～10個の炭素原子、および4～30モルのエチレンオキシドを有する線形アルキル基または分枝アルキル基でよい。例示的な実施態様では、2つのエトキシ化ノニルフェノールの組合せが使用される。陰イオン界面活性剤の適切な例としては、エトキシ化アルキルフェノールリン酸エステル、エトキシ化アルキルリン酸エステル、およびエトキシ化アルキル硫酸エステルが挙げられるが、これらだけに限らない。好ましくは、エトキシ化アルキルフェノールリン酸エステルは、8～10個の炭素原子、および4～30モルのエチレンオキシドを有する線形アルキル基を有する。もう1つの例示的な実施態様では、エトキシ化ノニルフェノール、およびエトキシ化アルキルフェノールリン酸エステルの組合せが使用される。洗浄剤組成物中の界面活性剤の濃度は、約1g/l～約30g/lの範囲でよい。

## 【0015】

タンパク質分解酵素、つまりプロテアーゼは、タンパク質分解として公知のプロセスによって、タンパク質がより小さいペプチド画分およびアミノ酸に分割する際に触媒作用を及ぼす任意の酵素である。タンパク質分解酵素は、様々な量および起源、7～12の様々なpH範囲の活性度を有するものが入手可能であり、本発明に使用することができる。適切なタンパク質分解酵素の例は、バチルスサブティリス、バチルスリケニホルミスの特定の菌株から得られるスプチリシンであり、たとえば、オランダ、デルフトのGenencor International N. V. が市販するMaxatase（商標）、デンマーク、コペンハーゲンのNovozymes Industri A/Sが市販するAlcalase（商標）がある。

## 【0016】

特に適するのは、8～12のpH範囲全体で最大活性度を有するバシラス属の菌株から得られるプロテアーゼであり、Novozymes Industri A/SからEsperase（登録商標）およびSavinase（登録商標）という商標名で市販されている。上記および類似酵素の調製は、英国特許第1 243 785号に記載されている。市販されているその他のプロテアーゼとしては、Kazusase（商標）（日本の昭和電工株式会社から市販）、Optimase（商標）（西ドイツ、ハノーバーのMiles Kali-Chemieが市販）、およびSuperase（商標）（米国のPfizerが市販）が挙げられる。

## 【0017】

洗浄剤組成物中のタンパク質分解酵素の濃度は、約0.15 μg/ml～約500 μg/mlの範囲でよい。本明細書に記載する濃度は、洗浄剤組成物中の純酵素の量で表される。

## 【0018】

酵素が保存中に変性することは、十分に周知されている。これまでに、多くの酵素安定化システムが開発され、酵素調整技術で十分に周知されている。1つまたは複数のアルカリ金属塩は、本発明の洗浄剤組成物中において、タンパク質分解酵素を安定化させるのに有効であることが実証されている。好ましくは、アルカリ金属ギ酸塩、またはアルカリ金属ハロゲン化物を使用するとよい。より好ましくは、アルカリ金属ギ酸塩およびアルカリ金属ハロゲン化物の組合せを使用する。実施例1に示す例示的な一実施態様では、ギ酸ナトリウムおよび塩化ナトリウムが使用される。洗浄剤組成物中のアルカリ金属塩（単数または複数）の濃度は、約1 g/l～約16 g/lの範囲でよい。

## 【0019】

様々な無機または有機緩衝剤は、洗浄剤組成物のpHを維持するために使用することができる。適切な緩衝剤としては、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、ホウ酸、グリシルグリシン、グリシン、トリスヒドロキシメチルアミノエタン（TRIS）、N-トリス（ヒドロキシメチル）メチル-2-アミノエタンスルホン酸（TES）、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸（HEPES）、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-3-プロパンスルホン酸（HEPPS）、2-（N-シクロヘキシルアミノ）エタンスルホン酸（CHES）、ピペラジン-1,4-ビス（2-エタンスルホン酸）（PIPES）、3-（（トリス（ヒドロキシメチル）メチル）アミノ）プロパンスルホン酸（TAPS）、またはこれらの組合せが挙げられるが、これらだけに限らない。例示的な一実施態様では、トリスヒドロキシメチルアミノエタンが使用される。本発明の洗浄剤組成物のpHは、約7～約12、好ましくは約8～約10の範囲である。

## 【0020】

洗浄剤組成物に使用される抗菌剤を適切に選択すると、試薬の保存寿命を保証し、血液分析器内における潜在的な生物体の増殖を減少させることもできる。上記のとおり、一般に使用されている抗菌剤の多くは、ホルムアルデヒド放出物質である。ホルムアルデヒド放出物質は、機器の排水中に含まれるホルムアルデヒドによる潜在的な環境汚染のため、



本発明の洗浄剤組成物における抗菌剤として選択されない。非ホルムアルデヒド放出抗菌剤のみが、水性試薬の保存料、および血液分析器内における微生物増殖を抑制するための活性成分として使用される。本明細書で使用する「ホルムアルデヒド放出物質」という用語は、化学反応後に、ホルムアルデヒド分子を含むかまたは放出する任意の化学物質を意味する。本明細書で使用する「非ホルムアルデヒド放出抗菌剤」という用語は、抗菌機能を有するが、ホルムアルデヒドを含まないか、または抗菌剤を含む試薬生成物の保存時にホルムアルデヒドを放出しない化学物質を意味する。

#### 【0021】

市販の様々な非ホルムアルデヒド放出抗菌剤は、本発明の目的に使用することができる。こうした抗菌剤としては、イソチアゾロン化合物、フェノキシエタノール、2(2-フェノキシエトキシ)メチルジプロモグルタロニトリル、アミンアブダクト、2,2-ジプロモ-3-ニトリロプリオンアミド、またはこれらの組合せが挙げられるが、これらだけに限らない。イソチアゾロン化合物は、特に適する。イソチアゾロン化合物の適切な例としては、5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、1,2-ベンゾイソチアゾリン-3-オン、およびこれらの誘導体が挙げられる。本明細書では、「誘導体」という用語は、同じ化学基、たとえば-CH<sub>2</sub>-基の連続的な添加によって一定の間隔で異なるか、またはハロゲン化物官能基の中で互に変化することによって異なる化合物である同族体を意味する。商品としては、5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、および2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンの混合物を含むProclia(登録商標)150が、ペンシルベニア州、フィラデルフィアのRohm and Haas Companyから入手することができる。1,2-ベンゾイソチアゾリン-3-オンは、ニュージャージー州、フローハムパークのTroy CorporationからMergal(登録商標)K10N、およびドイツ、シュパイアーのThor GmbHからActicide(登録商標)B10として市販されている。

#### 【0022】

好ましくは、2つ以上の非ホルムアルデヒド放出抗菌剤と一緒に使用すると、細菌、真菌、および酵母菌、特に自動化血液分析器システム内で頻繁に見られるものを含む広範な生物体の増殖を抑制する際に相乗効果が得られる。例示的な一実施態様では、5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、および1,2-ベンゾイソチアゾリン-3-オンの組合せは、以下の実施例1に示すように、洗浄剤組成物に使用される。洗浄剤組成物中の抗菌剤の濃度は、約0.03 g/l ~ 約0.8 g/lの範囲でよい。

#### 【0023】

試薬生成物における抗菌剤の効果を確実にするために、一般に、先行技術で公知の標準的な手順を使用して、微生物負荷調査とも呼ばれる保存料効果試験を実施する。米国薬局方(USP) 26、第51章によると、この調製は、以下が真である場合に効果的である：

細菌：7日間で、最初に計算した数から最低1.0 Log<sub>10</sub>減少し、14日間で、最初の数から最低3.0 Log<sub>10</sub>減少し、28日間で14日間の数より増加しない。

酵母菌およびカビ：7日、14日、および28日で、最初に計算した数から増加しない。

#### 【0024】

実施例2は、2つの洗浄剤組成物、実施例1の処方Aおよび処方Bの保存料効果試験を示す。表2に示すように、試験したすべての生物体の殖菌レベルは、早くも48時間で処方Aでは10<sup>5</sup>から10<sup>2</sup>(CFU/ml)未満に減少し、殖菌レベルは、7、14、および28日の試験時には、10<sup>2</sup>(CFU/ml)未満に維持された。表3にさらに示すように、処方Bの抗菌剤は、USP 26により要求される7日間より相当短い48時間で試験したすべての生物体を排除するのに効果的だった。

#### 【0025】

ホルムアルデヒドの濃度は、EPAメソッド8315Aに従って、高性能液体クロマト

グラフィ（HPLC）を使用して分析する。洗浄剤組成物は、製造直後、または室温もしくは高温で保存した後、清潔な容器内にサンプリングする。サンプルは、公認分析試験所に送られ、ホルムアルデヒド分の分析が行われる。高温で保存されるか、または室温で相当期間にわたって保存される水性組成物によっては、ホルムアルデヒド濃度は、新たに製造された時のレベルより増加し得ることが分かっている。搬送時、または顧客の使用時、たとえば室温、最大40℃の高温で保存する時に起り得る様々な保存状態を試験した。分析は、すべての条件下で、本発明の洗浄剤組成物が実質的にホルムアルデヒドを含まないことを示した。実施例3でさらに詳細に説明するとおり、洗浄剤組成物のホルムアルデヒド濃度は、新たに製造された時点で1ppm未満であり、様々な保存条件下で1ppm未満である。

#### 【0026】

さらに他の態様では、本発明は、本発明のホルムアルデヒドを含まない洗浄剤組成物を使用する血液分析器の洗浄または保守方法を提供する。本明細書で使用する「血液分析器」という用語は、血液サンプルの分析に使用される自動化または半自動化機器、たとえば血液分析装置、フローサイトメータ、および臨床化学分析器を意味する。一実施態様では、洗浄剤組成物は、自動化血液分析器によって、機器の各構成要素または部品に自動的に供給され、この機器は、血液分析時に、血液サンプルおよび1つまたは複数の試薬によって形成されたサンプル混合物に接触し、洗浄剤組成物は、ある期間にわたってこれらの機器構成要素と接触した状態を保ち、希釈剤または水ですすぎ洗いされて除去される。任意に、空気流または気泡で洗浄剤組成物を空気混合する方法を使用しても、構成要素の表面の物理的攪拌を増加させることができる。上記の洗浄プロセスでは、洗浄剤組成物は、溶解した血液サンプルからの破片、もしくはタンパク質沈殿物、または血液成分と血液分析に使用される試薬との間に形成される化学複合体から生成され、構成要素の表面に蓄積される沈殿物を除去する；したがって、洗浄剤組成物は、機器構成要素を清潔に保ち、これらの構成要素の表面における望ましくない蓄積を防止する。洗浄プロセスは、機器の使用または作業負荷に応じて、毎日1回以上行うことが可能である。

#### 【0027】

血液分析装置の場合、洗浄剤組成物は、通常、機器が通常どおり使用された後、一般に機器の一時停止時に、機器構成要素、たとえば、血液サンプルを調製するためのチャンバ、分析時にサンプル混合物と接触するフローセル、アパーチャ、および管類に供給される。機器構成要素と接触する洗浄剤組成物の接触時間、または培養時間は、自動化機器上で、一般に10分～12時間までプログラムすることができ、さらに延長することができる。既存の様々な血液分析装置の場合、機器は、一般に一時停止時に、洗浄剤組成物で1回以上すすぎ洗いされ、洗浄剤組成物が再び供給され、チャンバおよび管類に一晚保持されてから、翌日の起動時にシステムからすすぎ洗いされて除去される。また、この洗浄プロセスは、機器が、1日3回すべてのシフトで使用された場合、臨床血液学研究所の各シフトの終わりに通常1回実施される。あるいは、自動化洗浄サイクルは、機器システム内にプログラムすることもでき、このシステムは、予め決められた数のサンプルを機器上で分析した後、自動的に洗浄プロセスを実施する。この洗浄剤組成物は、一般に、血液分析器における血液分析に使用される血液希釈剤を使用してすすぎ洗いされる。しかし、洗浄剤組成物は、水ですすぎ洗いしても良い。

#### 【0028】

この洗浄プロセスの頻度、洗浄剤組成物が機器構成要素と接触する時間は、機器メーカーが、機器の必要性に基づいて決定することができ、試験所が、機器の作業負荷に基づいて決定することもできる。

#### 【0029】

本発明の洗浄剤組成物および方法を使用すると、血液分析器、特に、一般に、数百の全血液サンプルを毎日分析するハイエンドな血液分析装置は、効果的に洗浄することができ、かなりの量の血液サンプルを機器上で分析した後に蓄積する沈殿物がない状態を保つことが可能であることが分かっている。実施例4は、本発明の洗浄剤組成物を使用して、Co

ulter LH750 血液分析装置（カリフォルニア州、フラートンの Beckman Coulter, Inc. の製品）を保守する例を示す。示したとおり、ストレスを加えた機器作業環境で約 1,100 の血液分析サイクルを 2 週間にわたって実施した後、アパーチャ周囲の表面に沈殿は見られなかった。アパーチャ周囲に加わる電圧により、これらの領域は、多数の血液サンプルを分析する時に蓄積する沈殿物を示すことが多いことが知られる。したがって、血液分析器を洗浄および保守する際の洗浄剤組成物の効果は、試験時にこの領域の表面を監視することによって効果的に試験することができる。

#### 【0030】

以下の例は、本発明を具体的に示すものであり、いかなる点でも、請求の範囲で定義する本発明の範囲を制限するものと解釈するべきではない。

#### 【実施例】

#### 【0031】

（実施例 1）

以下の酵素洗浄剤組成物を調製した。

#### 処方 A

TRIS	6.05 g
1, 2 ベンゾイソチアゾリン - 3 - オン *	0.098 g
5 - クロロ - 2 - メチル - 4 - イソチアゾリン - 3 - オン	17.0 mg
2 - メチル - 4 - イソチアゾリン - 3 - オン	5.70 mg
ギ酸ナトリウム	8.16 g
塩化ナトリウム	3.5 g
エトキシ化ノニルフェノール	1.98 g
エトキシ化分枝ノニルフェノール	1.40 g
タンパク質分解酵素	$4.96 \times 10^{-3} \mu\text{g}$
Patent Blue VF	0.015 g
pH 8.70 の脱イオン水により 1.0 リットルまで q. a.	
ホルムアルデヒド濃度：0.4 ppm	

#### 処方 B

TRIS	6.05 g
1, 2 ベンゾイソチアゾリン - 3 - オン **	0.10 g
5 - クロロ - 2 - メチル - 4 - イソチアゾリン - 3 - オン	17.0 mg
2 - メチル - 4 - イソチアゾリン - 3 - オン	5.70 mg
ギ酸ナトリウム	8.16 g
塩化ナトリウム	3.5 g
エトキシ化ノニルフェノール	1.98 g
エトキシ化分枝ノニルフェノール	0.70 g
エトキシ化アルキルリン酸エステル	8.5 g
タンパク質分解酵素	$4.96 \times 10^{-3} \mu\text{g}$
Patent Blue VF	0.015 g
pH 8.70 の脱イオンにより 1.0 リットルまで q. a.	
ホルムアルデヒド濃度：0.6 ppm	

#### 【0032】

5 - クロロ - 2 - メチル - 4 - イソチアゾリン - 3 - オンおよび 2 - メチル - 4 - イソチアゾリン - 3 -オンは、ペンシルバニア州、フィラデルフィアの Rohm and Haas から Proclon（登録商標）150 の商標の製品を調達した。1, 2 ベンゾイソチアゾリン - 3 - オンは、ニュージャージー州、フローハムパークの Troy Corporation から Mergal（登録商標）K10N（\*）という商標の製品、およびドイツ、シュパイアーの Thor GmbH から Acticide（登録商標）B10（\*\*）の商標の製品をそれぞれ調達した。エトキシ化アルキルリン酸エステルは、

ミネソタ州、ブルーミントンのMurncoから調達した。エトキシ化ノニルフェノールは、ミズーリ州、セントルイスのSigma/AldrichからNonidet（登録商標）P-40代替品の商標の製品を調達した。エトキシ化分枝ノニルフェノールは、ニュージャージー州、克蘭ベリーのRhône-PoulencからIgepal SS-837の商標の製品を調達した。プロテアーゼは、ノースカロライナ州、フランクリントンのNovo Nordisk Biochem North America, Inc.からEsperase（登録商標）8.0Lの商標の製品を調達した。

【0033】

（実施例2）

実施例1の処方Aについて保存料効果試験を実施し、洗浄剤組成物の抗菌効果を判定した。

【0034】

保存料効果試験は、抗菌剤が、USP26（米国薬局方26、第51章）「保存料効果試験」に記載されているレベルおよび条件以下で、細菌、酵母菌、および糸状菌細胞、および/または孢子の増殖を制限する能力の測定基準である。

【0035】

洗浄剤組成物は、0.5mlの洗浄剤組成物を栄養素培養液管内に植菌し、20～25および30～35で7日間にわたって培養することにより、初期の無菌状態をまず試験した。培養サンプル中に、生物体は観察されなかった。

【0036】

洗浄剤組成物は、6つの細菌、2つの酵母菌、および3つの真菌を含む11の生物体に対して試験した。生物体のうち5つは、USP26に記載されており、6つの生物体は、生物体の増殖による汚染物質を有する血液分析装置から以前に単離された。生物体は、微生物学的な標準手順により調製し、約 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$  CFU（コロニー形成単位）/mlを含む初期懸濁液を得た。サンプル管中の10mlの洗浄剤組成物は、各々の生物体ごとに50μlの初期懸濁液を植菌し、洗浄剤組成物中の各々の生物体の濃度を $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$  CFU/mlにした。保存料効果試験に使用した殖菌レベルを表1に示す。

【0037】

植菌したサンプル管は、USP26に従って混合および培養した。植菌した洗浄剤組成物は、生理食塩水ブランク中で希釈し、標準のプレート計算方法を使用してプレートアウトした。プレートは、USP26の微生物回復培養時間に従って培養した。培養後、コロニー形成単位を数えて報告した。

【0038】

【表 1】

表1. 植菌レベル

生物体	ATCC 番号	植菌材料レベル CFU/ml
<i>E. coli</i>	8739	$6.7 \times 10^5$
<i>S. aureus</i>	6538	$6.0 \times 10^5$
<i>P. aeruginosa</i>	9027	$5.7 \times 10^5$
<i>P. cepacia</i>	単離 *	$5.8 \times 10^5$
<i>Corynebacterium sp.</i>	単離 *	$8.5 \times 10^5$
<i>Bacillus sp.</i>	単離 *	$1.5 \times 10^5$
<i>C. albicans</i>	10231	$6.5 \times 10^5$
<i>C. lipolytica</i>	単離 *	$4.7 \times 10^5$
<i>A. niger</i>	16404	$5.9 \times 10^5$
<i>Paecilomyces sp.</i>	単離 *	$3.1 \times 10^5$
<i>Penicillium sp.</i>	単離 *	$8.9 \times 10^5$

\* 生物体は、生物体の増殖による汚染物質を有する血液分析装置から単離した。

【 0 0 3 9 】

植菌した洗浄剤組成物は、48時間、7日、14日、21日、および28日に評価した。48時間、7日、14日、および28日の結果を表2に示す。示したとおり、試験したすべての生物体が増殖しないことは、処方 Aで観察された。植菌レベルは、早くも48時間で $10^2$  (CFU/ml) 未満まで減少し、28日のテスト期間で $10^2$  (CFU/ml) 未満に維持されたことに注意する。この結果は、処方 Aの抗菌剤は、洗浄剤組成物を保存する際に有効だったことを示した。

【 0 0 4 0 】

【表 2】

表2. 保存料効果試験の結果

生物体	48 時間 CFU/ml	7 日間 CFU/ml	14 日間 CFU/ml	28 日間 CFU/ml
<i>E. coli</i>	<100	<100	<100	<100
<i>S. aureus</i>	<100	<100	<100	<100
<i>P. aeruginosa</i>	<100	<100	<100	<100
<i>P. cepacia</i>	<100	<100	<100	<100
<i>Corynebacterium sp.</i>	<100	<100	<100	<100
<i>Bacillus sp.</i>	<100	<100	<100	<100
<i>C. albicans</i>	<100	<100	<100	<100
<i>C. lipolytica</i>	<100	<100	<100	<100
<i>A. niger</i>	<100	<100	<100	<100
<i>Paecilomyces sp.</i>	<100	<100	<100	<100
<i>Penicillium sp.</i>	<100	<100	<100	<100
陰性対照	増殖しない	増殖しない	増殖しない	増殖しない

実施例 1 の 処方 B は、上記と同じ手順を使用して等価な殖菌レベルで、表 1 に示す生物体と同じパネルを使用して試験した。植菌した洗浄剤組成物を 48 時間で評価し、結果を表 3 に示す。

【0041】

示したとおり、試験したすべての生物体が増殖しないことは、処方 B で観察された。処方 B 中の抗菌剤は、試験したすべての生物体を 48 時間以内に排除する上で効果的であり、これは、USP 26 が要求している 7 日間より相当短い。

【0042】

【表 3】

表3. 保存料効果試験の結果

生物体	48 時間 CFU/ml
<i>E. coli</i>	<100
<i>S. aureus</i>	<100
<i>P. aeruginosa</i>	<100
<i>P. cepacia</i>	<100
<i>Corynebacterium sp.</i>	<100
<i>Bacillus sp.</i>	<100
<i>C. albicans</i>	<100
<i>C. lipolytica</i>	<100
<i>A. niger</i>	<100
<i>Paecilomyces sp.</i>	<100
<i>Penicillium sp.</i>	<100
陰性対照	増殖しない

## ( 実施例 3 )

実施例 1 の処方 A は、フレッシュと呼ばれる洗浄剤組成物を製造した直後、および 45 で 17 日および 35 日にわたって洗浄剤組成物を培養した後など、様々な時にサンプリングした。高温での培養は、加速試験安定性試験条件を提供した。サンプルは、ニューヨーク州、アルバニーの Adirondack Environmental Services, Inc. に送り、分析を行った。Adirondack Environmental Services, Inc. は、National Environmental Laboratory Approval Program (米国環境試験所認定プログラム) によって認定されている。洗浄剤組成物のホルムアルデヒド濃度は、EPA メソッド 8315 A に記載されている手順に従って、HLPC を使用して分析した。分析結果を表 4 に示す。

【0043】

【表 4】

表4. 洗浄剤組成物中のホルムアルデヒド濃度

ホルムアルデヒド濃度 (ppm)			
ロット番号	フレッシュ	17 日	35 日
ロット番号 1	0.408	0.502	0.796
ロット番号 2	0.150	0.234	0.287
ロット番号 3	0.115	0.429	0.217

示したとおり、洗浄剤組成物が製造された時点、または加速安定性試験条件下で保存した後、ホルムアルデヒド濃度は 1 ppm 未満に維持した。

## 【 0 0 4 4 】

## ( 実施例 4 )

Coulter LH750 血液分析装置 ( カリフォルニア州、フラートンの Beckman Coulter, Inc. の製品 ) は、本発明の洗浄剤組成物の性能試験に使用した。Beckman Coulter, Inc. の既存の洗浄剤製品であり、機器と関連した Coulter Clenz ( 登録商標 ) は、実施例 1 の 処方 A と置き換えた。11 日間の就業日における圧力試験を血液分析装置上で実施したが、これは、圧力が加わる試験作業環境をシミュレートするものであった。11 日の試験期間中、週末は 2 日だった。各日とも、機器の通常の 起動 サイクル後、機器のユーザに対して推奨されるように品質管理手順を実施し、この手順は、様々な血液対照製剤の試験を伴った。次に、7 つのフレッシュな全血液サンプル、および 7 つの製造から 24 時間後の全血液サンプルは、取扱説明書に記載されている標準の手順に従って機器上に流し、各々のサンプルを 6 回分析した。さらに、期限切れの血液対照 は、機器上で 18 回分析した。期限切れの血液対照 は、一般に比較的粘性であり、洗浄に関する問題を生じる傾向があることが知られている。11 日間の各日について、一時停止サイクルを当日の終わりに実行した。5 日間で、30 分の一時停止サイクルを実行し、さらに 5 日間で、12 時間の一時停止サイクルを実行し、1 日で 24 時間の一時停止サイクルを実行した。一時停止サイクル時、洗浄剤組成物は、機器の様々な領域に供給され、アパーチャ、サンプル混合チャンバ、および様々な管類に接触した。一時停止サイクルが終わるごとに、起動 サイクルを実行し、LH700 シリーズの希釈剤 ( Beckman Coulter, Inc. の製品 ) で、洗浄剤組成物を機器から洗い流した。

## 【 0 0 4 5 】

上記のように 11 日間の圧力試験後、WBC 槽および RBC 槽の アパーチャ をともに機器から取り外し、目視および 立体鏡 で検査した。タンパク質および破片による沈殿物の蓄積は、アパーチャの表面 および周囲領域に観察されなかった。さらに、血液サンプルの分析時に、血液サンプル / 試薬混合物と接触する管類およびその他の構成要素に、沈殿物は観察されなかった。

## 【 0 0 4 6 】

本発明について詳細に説明してきたが、これは、本発明の範囲を制限するものと解釈すべきではなく、本発明の好ましい実施態様を例示するものであると解釈すべきである。しかし、上記の明細書に記載され、添付の請求の範囲、およびその法的に等価なものに定義される本発明の精神および範囲内で、様々な修正および変更を加えることが可能であることは明らかであろう。