

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-249388

(P2005-249388A)

(43) 公開日 平成17年9月15日(2005.9.15)

(51) Int. Cl.⁷

GO 1 N 33/569

GO 1 N 33/536

F I

GO 1 N 33/569

GO 1 N 33/536

テーマコード (参考)

L

A

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2004-55710 (P2004-55710)
 (22) 出願日 平成16年3月1日(2004.3.1)

(71) 出願人 390037327
 第一化学薬品株式会社
 東京都中央区日本橋3丁目13番5号
 (74) 代理人 100090941
 弁理士 藤野 清也
 (74) 代理人 100076244
 弁理士 藤野 清規
 (74) 代理人 100113837
 弁理士 吉見 京子
 (74) 代理人 100127421
 弁理士 後藤 さなえ
 (72) 発明者 小堀 樹一郎
 茨城県龍ヶ崎市向陽台3-3-1 第一化学薬品株式会社・診断薬研究所

最終頁に続く

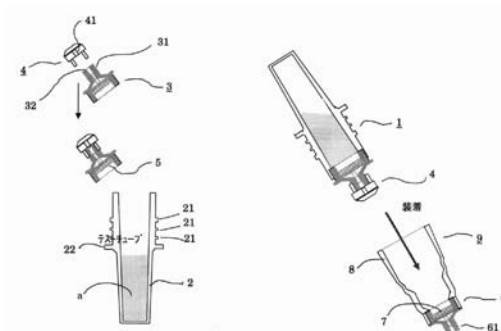
(54) 【発明の名称】 検体の免疫学的検査方法及びその方法に用いる検査器具

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 検査方法をより簡便にし、検査所要時間を短縮すると共に正確な診断がおこなえる方法及びその検査に用いる簡便な器具の提供。

【解決手段】 標識抗体含浸フィルター5内蔵の第1キャップ3を装着した検体収容容器1を注入用容器9に嵌合し、検体収容容器から希釈検体液aを注入用容器内に吐出し、吐出液を注入用容器内で攪拌・混合した後テストデバイスに吐出・注入して反応を観察し、検体中の抗原の有無や種別を検査・診断する検体の免疫学的検査方法及び希釈検体液を濾過しながら標識抗体を添加する操作とこの検体濾過液を攪拌する操作とこの攪拌液をさらに濾過しながらテストデバイスに注入する操作とを一体化させた容器を用いておこなう検体の免疫学的検査方法。これらに用いる検体の検査器具。これらの検査方法及び検査器具は、インフルエンザウイルスなどの感染症の検査や緊急簡易検査に用いるのに好適である。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

標識抗体を含浸させたフィルターを内蔵しているキャップを装着した検体収容容器を注入用容器に嵌合し、検体収容容器から検体液又はその希釈液を注入用容器内に吐出し、吐出した液を注入用容器内で攪拌・混合した後注入用容器からテストデバイスに吐出・注入して反応を観察し、検体中の抗原の有無や種別を検査・診断することを特徴とする検体の免疫学的検査方法。

【請求項 2】

検体液又はその希釈液を濾過しながら標識抗体を添加する操作とこの標識抗体を含む検体濾過液を攪拌する操作とこの攪拌した検体濾過液をさらに濾過しながらテストデバイスに注入する操作とを、一体化させた容器を用いておこなうこととした請求項 1 に記載の検体の免疫学的検査方法。

10

【請求項 3】

検体中の抗原がインフルエンザウイルスである請求項 1 又は 2 に記載の検体の免疫学的検査方法。

【請求項 4】

少なくとも、以下の(1)～(5)の部材からなり、これらの部材を一体化させて検体の免疫学的検査のために用いる検査器具。

(1) 先端が小孔を有するノズル状であり、かつ、標識抗体を含浸させた第 1 フィルターを内蔵している第 1 キャップ

20

(2) 先端に第 1 キャップを装着して検体収容容器を形成する可撓性の容器本体

(3) 第 1 キャップの小孔と連通する小孔を有し、第 1 キャップのノズル状部に嵌め込んで用いる攪拌子

(4) 先端が小孔を有するノズル状であり、かつ、第 2 フィルターを内蔵している第 2 キャップ

(5) 先端に第 2 キャップを装着すると共に、後端から検体収容容器を挿入して回転自在に嵌合させ、次いで、密封状態に嵌合することが可能な注入用容器

【請求項 5】

インフルエンザウイルスの検査・診断に用いる請求項 4 に記載の検査器具。

30

40

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は検体の免疫学的な検査方法とその方法に用いる検査器具に関する。詳しくは、本発明は、抗原抗体反応を用いる臨床検体の免疫学的検査方法において、各種抗原の有無や種別を簡易・迅速かつ正確に検査・診断するための新規な方法とその検査方法に用いる新規な検査器具に関する。

【背景技術】

【0002】

検体として、血液、尿、便、鼻汁液、痰或いはスワブ検体として収集された分泌液などを用いる臨床検査として、検体に含まれる特定の抗原を抗原抗体反応を利用して検出する免疫学的な検査方法が広く用いられている。その一般的な方法は、およそ以下のとおりである。

(1) 上記のような検体液又はその希釈液(以下、これらを濾過した液を併せて「希釈検体液」と称する。)を、酵素、金属コロイド、着色ラテックス、色素などの呈色識別物質で抗体を標識した標識抗体液と接触させる。

(2) この接触により、検体中の抗原と標識抗体とを特異的に反応させて、抗原抗体の免疫複合体を形成させる。

(3) その免疫複合体の量を、目視によるか又は光学的な変化として測定し、検体中の抗原の定性測定又は定量測定をおこなう。

【0003】

上記の検査方法を応用して、ウイルス感染の有無、妊娠判定、ガン疾患の罹病確認などを、簡便かつ迅速に検査・診断する手段として、種々の簡易診断キットが開発され、市販されている。その一例として、インフルエンザウイルスの感染の有無の診断キットの状況について説明する。

【0004】

インフルエンザウイルスは、オルソミクソウイルス科に属し、直径80～120nmの球状ウイルスである。血清学的にはA型・B型・C型の3つの型に分類される。我が国において冬季の流行の原因となっているのは、主にA型とB型である。

【0005】

インフルエンザに対しては、従来、抗生物質や抗炎症剤などを用いた対症療法がおこなわれてきた。しかし、近年、抗ウイルス性の医薬品が適用可能となったことから、その治療や感染防止の観点上、できる限り早期に適切な治療薬を選択し、患者に投与することが必要となっている。こうした背景により、インフルエンザウイルスの感染の有無を検査できる診断キットの実用化が急速に進み、各社により、ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)をベースにした簡易型の診断キットが開発され、市販されている。特開2001-124775号公報(特許文献1)や特開2000-230931号公報(特許文献2)にはこれらの一例が開示されている。

【0006】

これら診断キットには、クロマト式、フロースルー式のアッセイなどがあるが、フロースルー式の基本的な測定原理がサンドイッチELISAであることから、B/F分離を必要とする作業ステップが複数あり、そのため、例えば、開業医が患者から試料を採取し、市販の診断キットを用いて検査しても、その結果が得られるまでにはかなりの時間(10分以上)を要している。それ故、できる限り早期に検査・診断結果が得られるように、操作ステップの簡素化や測定時間の短縮が強く望まれている。

【0007】

このような状況の下、本発明者らは、標識抗体を含浸させてあるフィルターを内蔵したキャップを希釈検体液を収容した容器本体に装着してこの検体収容容器から標識抗体を含む検体濾過液をテストデバイスに注入して反応を観察し、検体中の抗原の有無や種別を検査する方法を開発した(特願2003-63832号)。この検査方法は、簡便であり、

10

20

30

40

50

かつ、検査者の個人差による影響を少なくするという効果や保存中に標識抗体の凝集が生じにくいという効果を有するが、標識抗体を含む検体濾過液をテストデバイスに注入するとき、高濃度の標識抗体を含む液が先に出てくることがある。そのため、標識抗体を含む検体濾過液を、一旦、別の容器に注入して攪拌した後、別のフィルターで濾過してからテストデバイスへ注入する方法も考えられるが、操作ステップが多くなる上、必要な容器の数が増え、複雑になるという問題がある。また、そのような問題の有無に関わらず、抗原抗体反応を応用した免疫学的な検査方法とその方法に用いる器具については、つねに、一層の正確化・簡便化・迅速化が求められている。

【特許文献1】特開2001-124775号公報

【特許文献2】特開2000-230931号公報

10

【非特許文献1】金澤実・菅谷憲夫「インフルエンザ診療マニュアル」株式会社南江堂2001年2月20日第1刷発行の110～115頁

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明は、上記の実情に鑑みて開発されたものであって、検体の免疫学的な検査・診断において、検査方法をより簡便にし、検査所要時間を短縮すると共に、正確な診断がおこなえる方法及びその検査に用いる簡便な器具を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

20

上記の課題を解決するために特許請求の範囲・請求項1に記載する発明は、標識抗体を含浸させたフィルターを内蔵しているキャップを装着した検体収容容器を注入用容器に嵌合し、検体収容容器から検体液又はその希釈液を注入用容器内に吐出し、吐出した液を注入用容器内で攪拌・混合した後注入用容器からテストデバイスに吐出・注入して反応を観察し、検体中の抗原の有無や種別を検査・診断することを特徴とする検体の免疫学的検査方法である。

【0010】

また、同請求項2に記載する発明は、検体液又はその希釈液を濾過しながら標識抗体を添加する操作とこの標識抗体を含む検体濾過液を攪拌する操作とこの攪拌した検体濾過液をさらに濾過しながらテストデバイスに注入する操作とを、一体化させた容器を用いておこなうこととした請求項1に記載の検体の免疫学的検査方法である。

30

【0011】

また、同請求項3に記載する発明は、検体中の抗原がインフルエンザウイルスである請求項1又は2に記載の検体の免疫学的検査方法である。

【0012】

また、同請求項4に記載する発明は、少なくとも、以下の(1)～(5)の部材からなり、これらの部材を一体化させて検体の免疫学的検査のために用いる検査器具である。

(1)先端が小孔を有するノズル状であり、かつ、標識抗体を含浸させた第1フィルターを内蔵している第1キャップ

(2)先端に第1キャップを装着して検体収容容器を形成する可撓性の容器本体

40

(3)第1キャップの小孔と連通する小孔を有し、第1キャップのノズル状部に嵌め込んで用いる攪拌子

(4)先端が小孔を有するノズル状であり、かつ、第2フィルターを内蔵している第2キャップ

(5)先端に第2キャップを装着すると共に、後端から検体収容容器を挿入して回転自在に嵌合させ、次いで、密封状態に嵌合することが可能な注入用容器

【0013】

また、同請求項5に記載する発明は、インフルエンザウイルスの検査・診断に用いる請求項4に記載の検査器具である。

【発明の効果】

50

【0014】

特許請求の範囲・請求項1に記載の検体の検査方法は、上記の構成であるから、標識抗体を含む検体濾過液を注入用容器内で十分に攪拌・混合した後でテストデバイスに注入するので、検体と標識抗体が十分に混和された状態で免疫複合体を形成することができ、その状態の濾過液をテストデバイスに注入することができるので、検体中の抗原の有無や種別をより正確に検査・診断できる。また、同請求項2に記載の検体の検査方法は、上記の構成であるから、希釈検体液と標識抗体との混合・攪拌・濾過・テストデバイスへの注入の操作を一体化した容器を用いておこなうので、一連の操作としてきわめて容易かつ迅速におこなうことができる。したがって、検体の検査に要する時間を短縮でき、正確な検査結果を短時間のうちに知見できる。その上、全ての操作を一体化させた容器内でおこなうので、検査者が検査対象のウイルスなどに感染するリスクが低減できると共に、器具の廃棄作業も楽におこなうことができる。また、同じく請求項4に記載の本発明に係る検査器具は、上記の構成であるから、使用方法が簡便であり、各種のウイルス感染の有無を検査・診断する診断キットに組み込んで用いるのに最適である。すなわち、本発明に係る検体の検査方法とその方法に用いる検査器具は、臨床検体、例えば、血液、尿、便、鼻孔・鼻腔・咽頭・鼻咽頭などを由来とする鼻汁液や鼻汁吸引液、痰或いはスワブ検体として収集された分泌液などの各種の検体を免疫学的に検査するのに有用であり、インフルエンザウイルスなどの感染症の検査や緊急簡易検査などに好適に用いることができる。特に、ヒトインフルエンザA型ウイルス又はヒトインフルエンザB型ウイルスの存在を短時間のうちに検出し、かつ、鑑別するための方法及びそのための器具として大いに有用である。

10

20

【発明を実施するための最良の形態】

【0015】

本発明の説明において、「第1フィルター」とは、標識抗体を含浸させてあるフィルター（標識抗体を含浸させた濾紙と他の濾紙を組み合わせた構成のフィルターを含む）のことであり、第1フィルターを内蔵するキャップを「第1キャップ」と言う。また、「第2フィルター」とは、標識抗体を含浸させていないフィルター（数枚の濾紙を組み合わせた構成のフィルターを含む）のことであり、第2フィルターを内蔵するキャップを「第2キャップ」と称する。また、本発明において、標識抗体を含む検体濾過液を注入して抗原の有無や種別を表示させ、検査結果を診断するための部材を「テストデバイス」と称する。

【0016】

本発明に係る検査器具は、検体収容容器と注入用容器と攪拌子とで構成され、これらの容器や部材を一体化させて用いる。すなわち、本発明の検査方法を概括的に説明すれば、以下のとおりである。

30

(1) 検体収容容器の容器本体に希釈検体液を収容する。容器本体は、指で押圧すると凹む程度の可撓性を有する必要がある。例えば、軟質ポリエチレン製のものが好ましい。また、容器本体は、下窄まりのテーパ状の細い筒型であり、かつ、その外壁のほぼ中央部（抽出用容器の内壁に嵌合する位置）に複数のリブを設けてあることが好ましい。

(2) 第1フィルター（標識抗体を含浸させたフィルター）を第1キャップに挿入して内蔵させる。第1キャップは、先端を小孔を有するノズル状に成形したものである。

(3) 希釈検体液を収容した容器本体に第1キャップを装着して検体収容容器とする。

40

(4) 第1キャップのノズル状部の先端に攪拌子を取り付ける。攪拌子は、出っ張った攪拌翼を備え、その中心部に第1キャップのノズル状部の小孔に連通する小孔を貫通してある。したがって、攪拌子を取り付けた状態で検体収容容器の側壁を指で押圧すると、希釈検体液が攪拌子の先端から吐出される。

(5) 一方、注入用容器の先端に第2フィルター（標識抗体を含浸させていないフィルター）を内蔵した第2キャップを装着する。注入用容器は、例えば、内窄まりのテーパ状の細い筒型であり、その後端は、検体収容容器の外壁と嵌合が可能であると共に開放状態に形成してある。すなわち、抽出用容器には底部がない。

(6) 攪拌子を取り付けた検体収容容器を注入用容器の後端から挿入して、まず、回転自在に嵌合させる。抽出用容器の内壁と検体収容容器の外壁に設けたリブの部分とが接触す

50

るように嵌合すると、注入用容器との嵌合状態を維持しながら検体収容容器を容易に回転させることができる。

(7) 注入用容器と嵌合した検体収容容器の容器本体の側壁を指で押圧して希釈検体液を注入用容器内に吐出する。そうすると、第1キャップのノズル状部に取り付けた攪拌子の周囲は吐出された希釈検体液で充満する。なお、吐出された希釈検体液は、第1フィルター(標識抗体を含浸させてあるフィルター)を通過したので、「標識抗体を含む検体濾過液」の状態となっている。

(8) 検体収容容器を把持して回転させることによって先端の攪拌子を回転させ、注入用容器内の標識抗体を含む検体濾過液を攪拌・混合する。この操作によって、検体中の抗原と標識抗体とが十分に混和された状態で免疫複合体を形成することができる。

10

(9) 次いで、検体収容容器を押し込んで、抽出用容器に密着させる。検体収容容器と抽出用容器とを、どちらも下窄まりのテーパ状に形成してあると、検体収容容器を押し込むだけで両者は容易に密着し、密封する。

(10) 再び検体収容容器の側壁を押圧して注入用容器内の標識抗体を含む検体濾過液の全量を注入用容器に装着した第2キャップの先端からテストデバイスへ吐出・注入する。

(11) テストデバイスは、表面に開口部を有し、吸収材(脱脂綿や吸収紙など)と抗体を固定化させた多孔性膜材(メンブレンなど)を収納してある。テストデバイスに注入された標識抗体を含む検体濾過液は、検体中の抗原と標識抗体との免疫複合体を多孔性膜材に吸着させる。

(12) テストデバイスに洗浄液を注入して多孔性膜材を洗浄する。

20

(13) テストデバイス上の反応を観察して、抗原の有無や種別を鑑別・診断する。

【0017】

本発明に係る検体の検査方法は、上記の構成であるから、標識抗体を含む検体濾過液を注入用容器内で攪拌・混合した後でテストデバイスに注入するので、検体と標識抗体とが十分に混和された状態で免疫複合体を形成し、その状態でテストデバイスに注入されるので、正確な抗原抗体反応を知見できる。また、希釈検体液と標識抗体液との濾過・混合、標識抗体を含む検体濾過液の攪拌・濾過・テストデバイスへの注入の操作を一体化した容器を用いておこなうので、一連の操作としてきわめて容易かつ迅速におこなうことができる。したがって、検体の検査に要する時間を短縮でき、正確な検査結果を短時間のうちに知見できる。その上、全ての操作を一体化させた容器内でおこなうので、検査者が検査対象のウイルスなどに感染するリスクが低減できると共に、器具の廃棄作業も楽におこなうことができる。

30

【0018】

上記の説明において、検体収容容器の容器本体として下窄まりのテーパ状に形成した細い管で、その外壁に複数のリップを形成してあるものを用い、また、注入用容器の本体として、下窄まりのテーパ状に形成した細い管を用いたので、検体収容容器と注入用容器とを回転自在に嵌合することができ、かつ、検体収容容器を押し込むだけで、両者を容易に密着させ、隙間なく密封することができた。しかし、本発明の検体収容容器と注入用容器の形状・構造は、上記説明に限るものではなく、要は、まず、検体収容容器を注入用容器に回転自在に嵌合することができ、次いで、両者を密着状態にして嵌合させ、両者を一体的に用いることができるのであれば、どのような形状・構造にしても差し支えない。

40

【0019】

なお、本発明の説明において「密封」とは、検体収容容器と注入用容器を嵌合して一体化した後、検体収容容器を押圧することにより注入用容器から標識抗体を含む検体濾過液を吐出することが可能となるように気密化することを意味する。

【0020】

また、本発明で用いる第1キャップ及び第2キャップ(どちらも「フィルターホルダー」の役割をする部材)の形状・構造は、フィルターを内蔵できる形状・構造であればよく、特に限定はないが、本発明者らが開発した「漏斗構造型のキャップ」(特願2003-339947号)を用いることが好ましい。すなわち、特願2003-339947号

50

のキャップは、フィルターの装着部以降の吐出側の内壁を内径のテーパ状とそれに続く細管状の漏斗構造に形成してあるので、濾過された希釈検体液がスムーズに流れ、濾過液に乱流を生じることがない。そのため、希釈検体液の濾過や標識抗体を含む検体濾過液の再濾過を効率的におこなうことができる。さらに、上記内径のテーパ状の部分に細管部に向かって伸びる複数のリブを設けると、濾過の際の抵抗が小さくなり、一層容易かつ迅速に濾過をおこなうことができ、したがって、検査所要時間を一層短縮することができる。

【0021】

本発明で用いるフィルターの材質は、特に制限はないが、高密度ポリエチレン重合体濾布、ガラス繊維系濾布、セルロース系濾紙などの、一般に濾布又は濾紙として使用されている材料を用いることが好ましい。また、標識抗体を第1フィルターに含浸させる方法としては、フィルターを構成する濾布又は濾紙を標識抗体液に浸漬するか又は濾布又は濾紙に標識抗体液を塗布ないし滴下するなど任意の方法を採ることができる。フィルターを工業的に生産するときは、塗布機を用いて一定量を塗布すればよい。

10

【0022】

本発明において、標識抗体を含浸させた第1フィルターを第1キャップに内蔵させる方法は任意であるが、例えば、第1キャップのノズル側（吐出口側）から、標識抗体を含浸させたガラス繊維系濾布からなる第1フィルター、標識抗体を含浸させてない高密度ポリエチレン重合体濾布からなるフィルターの順に重ねて多層構造にして装填してもよい。第2フィルターを第2キャップに内蔵するときも、上記に準じて多層構造にして装填してもよい。また、本発明において、標識抗体の作成に用いる呈色物質としては、酵素、貴金属コロイド、色素、着色ラテックスなど任意のものを用いて差し支えないが、貴金属コロイド粒子を用いるのが好ましく、貴金属コロイド粒子の中でも、特に、広く知られている金コロイド調製法により調製した金コロイド粒子を用いるのが好ましい。

20

【0023】

以下、本発明に係る検査用器具とその適切な使用方法の実施例を図面に基づいて詳細に説明する。

【実施例1】

【0024】

図1は、本実施例の検体の検査方法及びその方法に用いる検査器具の説明図である。図2のAは、本実施例で用いる検体収容容器を注入用容器に回転自在に嵌合させた状態を示す説明図であり、同Bは、検体収容容器を注入用容器に密着させた状態を示す説明図である。

30

【0025】

まず、本実施例における各部材の構成について説明する。

【0026】

図1において、1は、希釈検体液aを収容してある可撓性の容器本体2に、先端に小孔を有するノズル状部31を備えた第1キャップ3を装着して成る検体収容容器である。検体収容容器1の容器本体2は、図示のとおり、やや下径のテーパ状に形成してあり、希釈検体液aの収容部の上方の外壁に3本のリブ21・21・21を設けてあり、かつ、その後方にストッパー22を設けてある。また、第1キャップ3のノズル状部31には内部と連通する細い溝32が穿ってあり、さらに、ノズル状部31の先端には出っ張った攪拌翼41を有する攪拌子4を装着してある。攪拌子4も先端に小孔を有し、この小孔は攪拌子4をキャップ3のノズル状部31に装着したとき第1キャップ3の細い溝32と連通するようにしてある。また、第1キャップ3は、貴金属コロイドなどで抗体を標識した標識抗体を含浸させてある板状の第1フィルター5を内蔵している。

40

【0027】

図1において、8は、前端に第2キャップ6を装着してあり、後端は検体収容容器1の容器本体2と嵌合し、押し込めば密着可能な状態の、やや下径のテーパ状に形成してある注入用容器の容器本体である。第2キャップ6は、板状の第2フィルター7（標識

50

抗体を含浸させていないフィルタ -) を内蔵している。本実施例において、これらの部材や容器は全て硬質又は軟質のプラスチック材で製することが好ましい。

【0028】

次に、これらの部材や容器を一体化する方法について説明する。

【0029】

まず、図1の左図に示すように、検体収容容器1の容器本体2に希釈検体液aを収容する。次いで、第1フィルタ-5を第1キャップ3に装着し、攪拌子4を第1キャップ3のノズル部31に取り付ける。次いで、第1キャップ3を容器本体2に嵌め込むと、図1の右上図のとおり、希釈検体液aを収容してあり、先端に攪拌子4を装着した検体収容容器1ができて上がる。

10

【0030】

一方、第2フィルタ-7を第2キャップ6に装着し、さらに第2キャップ6を注入用容器の容器本体8に装着すると注入用容器9ができて上がる。この注入用容器9に対して、図2に示すように、その後端から検体収容容器1の先端を挿入し、嵌合させ、両者を一体化する。なお、容器本体2の外壁にストッパ-22を設けておくと、検体収容容器1と注入用容器9との嵌合状態の目安となり、検体収容容器1の過度の押し込みを防止できる。

【0031】

このように、先端に攪拌子4を取り付けてある検体収容容器1と注入用容器9とを一体化させた状態で検体収容容器1の容器本体2の側壁を指で押圧すると、検体収容容器1に収容されている希釈検体液aは第1フィルタ-5(標識抗体を含浸させたフィルタ-)を 20
通って、注入用容器9内へ吐出される。このとき、希釈検体液aが第1フィルタ-5に含浸させてある標識抗体と接触して「標識抗体を含む検体濾過液」となり、検体中の抗原は標識抗体と反応して免疫複合体を形成する。

20

【0032】

検体収容容器1の容器本体2の側壁を十分に押圧して検体希釈液aの全部を注入用容器9内に吐出させた後、例えば、左手で注入用容器9を把持したまま右手で検体収容容器1の側壁をつかんで回転すると、第1キャップ3の先端に取り付けた攪拌子4が回転するので、注入用容器9内に吐出され攪拌子4の周囲に充満している標識抗体を含む検体濾過液が攪拌される。これを数回繰り返すと、標識抗体を含む検体濾過液は十分に攪拌・混合される。この操作によって、検体中の抗原と標識抗体とが十分に混和された状態で免疫複 30
合体を形成することができる。

30

【0033】

次いで、検体収容容器1を押し込んで、注入用容器9に密着させる。検体収容容器1と注入用容器9とは、どちらも下窄まりのテーパ-状の細い筒型に形成してあるので、検体収容容器1を押し込むだけで両者は容易に密着し、密封する。その時点で、再び検体収容容器1の容器本体2の側壁を押圧して注入用容器9内の標識抗体を含む検体濾過液の全量を注入用容器9に装着した第2キャップ6の先端からテストデバイスへ吐出・注入する。

【0034】

テストデバイスは、表面に開口部を有し、吸収材としての脱脂綿と抗体を固定化させたメンブレンを収納してある。テストデバイスに注入された標識抗体を含む検体濾過液は、 40
検体中の抗原と標識抗体との免疫複合体をメンブレンに吸着させるので、テストデバイスに洗浄液を注入してメンブレンを洗浄する。しかる後、テストデバイス上の反応を観察して、抗原の有無や種別を鑑別・診断する。

40

【0035】

上記の実施例において、検体収容容器1の容器本体2として下窄まりのテーパ-状に形成した細い管で、かつ、その外壁に3本のリブ21・21・21を形成してあるものを用いたので、検体収容容器1を注入用容器9の後端から挿入すると、図2のAに示すように、検体収容容器1の外壁の3本のリブ21・21・21が注入用容器9の内壁に接触することによって両者の嵌合状態が維持されると共に、検体収容容器1と注入用容器9との嵌合部分は3本のリブ21・21・21の接触面のみであるから、検体収容容器1と注入用容器9との嵌合を回 50

50

転自在に維持することができる。また、検体収容容器 1 の容器本体 2 と注入用容器 9 の容器本体 8 とは、どちらも、下窄まりのテーパ状に形成した細い管を用いたので、図 2 の B に示すように、検体収容容器 1 を押し込むだけで両者を容易に密着させ、隙間なく密封することができる。なお、図 2 の B に示すように、検体収容容器 1 を押し込むとき、検体収容容器 1 に取り付けられた攪拌子 4 の攪拌翼が注入用容器 9 又はこれに装着した第 2 キャップ 6 の内壁に当接するように形成すると、検体収容容器 1 と注入用容器 9 との密着はさらに好ましい状態になる。しかし、検体収容容器 1 と注入用容器 9 の形状・構造は、上記実施例に限るものではなく、要は、まず、検体収容容器 1 を注入用容器 9 に回転自在に嵌合することができ、次いで、両者を密着状態にして嵌合させ、両者を一体的に用いることができるのであれば、どのような形状・構造にしても差し支えない。以下、試験例をもって、本発明をさらに詳細に説明する。 10

【試験例 1】

【0036】

< 本発明法と従来法の検査精度の確認試験 >

(1) 試験方法

実施例 1 で使用した検体収容容器の容器本体、第 1 フィルター（標識抗体を含浸させてあるフィルター）、第 1 キャップ（第 1 フィルターを内蔵したキャップ）、第 2 フィルター（標識抗体を含浸させてないフィルター）、第 2 キャップ（第 2 フィルターを内蔵したキャップ）、注入用容器、テストデバイスなど同一の部材や容器を用い、以下の 2 通りの方法によって、検体の免疫学的な検査をおこなった。両方法とも、同じ検体について同じ標識抗体や同じ希釈液・洗浄液を用い、同じテストデバイスに注入して洗浄後、反応を観察した。試験結果は表 1 と表 2 に示すとおりである。 20

a. 従来法：

検体収容容器の容器本体に希釈検体液を収容し、標識抗体液を 3 滴滴下して混和した後、容器本体に第 2 フィルターを内蔵した第 2 キャップを装着し、標識抗体を含む検体濾過液をテストデバイスに注入する方法（従来から主として実施されている検査方法）

b. 本発明法：

先端に攪拌子を取り付けた第 1 キャップ（第 1 フィルターを内蔵している）を、希釈検体液を収容した容器本体に装着して検体収容容器となし、この検体収容容器を第 2 フィルターを装着した抽出用容器に回転自在に嵌合させ、注入用容器内に希釈検体液を吐出し、これを攪拌子によって攪拌・混合した後、注入用容器から標識抗体を含む検体濾過液をテストデバイスへ注入する方法（実施例 1 の検査方法） 30

(2) 供試した試薬類や部材の調製

a. 希釈検体液

緩衝液に界面活性剤などを添加して製した希釈液によって卵培養したウイルス (1.25×10^7) を 6.25 倍から 125 倍まで段階的に希釈した検体を加えて攪拌し、希釈検体液を調製した。

b. 標識抗体液

すでに広く知られている金コロイド調製法により金コロイドを調製した後、抗インフルエンザ A 型抗体及び抗インフルエンザ B 型抗体を既知の方法で結合させて、それぞれの金コロイド標識抗体が混合している状態の標識抗体液を作成した。 40

c. 第 1 フィルター（標識抗体を含浸させたフィルター）の作成

上記の標識抗体液を 2 滴ずつ、ガラス繊維系の濾紙に塗布した後、自然乾燥させ、その上に別の濾紙を 1 枚重ねて第 1 フィルターとした。

d. テストデバイスの調製

選択されたポアサイズを有するメンブランに抗インフルエンザ A 型抗体及び抗インフルエンザ B 型抗体並びに抗マウス IgG に対する抗体のそれぞれ至適量をテストデバイスの所定の場所に塗布した。その際、塗布する形状は任意の形状とすることが可能であり、反応後の視認性を考慮して、塗布間隔及び塗布量を決定した。また、検体液と標識抗体との混合液を滴下する開口部は、円形、楕円形、長四角形、菱形、台形など、検出 50

するサインの数などの目的に合わせて選択することができるが、3種類のサインの検出を目的とする本試験例の場合は、視認性のよい楕円形が好ましいので、楕円形を選択した。なお、抗マウスIgGに対する抗体の代わりにヒトインフルエンザA型抗原及びB型抗原の混合体を選択してもよい。

e. 洗浄液

緩衝液にウレアなどの蛋白変性剤を添加して調製した。

(3) 試験結果

【0037】

【表1】

希釈率	1/6.25	1/15.63	1/31.25	1/62.5	1/125	ブランク
ウイルス量 (TCID ₅₀)	2.00E+06	8.00E+05	4.00E+05	2.00E+05	1.00E+05	
従来法	++	++	++	+	+	-
本発明法	++	++	++	+	+	-

10

抗原：A /Kitakyusyu/159/93

(注1) 原ウイルス量は、公知のTCID₅₀ (50% tissue culture infective dose) で算出したものを併記した。

20

(注2) ブランクとして、生理食塩液を用いた。

(注3) - : 陰性、+ : 陽性、++ : 強陽性、を示す。

【0038】

【表2】

希釈率	1/6.25	1/15.63	1/31.25	1/62.5	1/125	ブランク
ウイルス量 (TCID ₅₀)	2.00E+06	8.00E+05	4.00E+05	2.00E+05	1.00E+05	
従来法	++	++	+	+	+	-
本発明法	++	++	+	+	+	-

30

抗原：B /Lee/40

(注1) 原ウイルス量は、公知のTCID₅₀ (50% tissue culture infective dose) で算出したものを併記した。

(注2) ブランクとして、生理食塩液を用いた。

(注3) - : 陰性、+ : 陽性、++ : 強陽性、を示す。

(4) 所見

表1・表2から、本発明法(希釈検体液を標識抗体含浸フィルターを通過させ、かつ標識抗体を含む検体濾過液を攪拌する方法)は、従来法(希釈検体液に標識抗体液を滴下する方法)と一致する結果が得られることが確認された。この結果から、本発明法の検査精度は、従来法と同等であることが理解できる。

40

【試験例2】

【0039】

<本発明法と従来法の検査所要時間の比較試験>

(1) 試験方法

試験例1で実施した2通りの試験方法(本発明法と従来法)について、それぞれの方法によって「希釈検体液を検体収容容器の容器本体に収容する直前からテストデバイスへ吐出・注入する直前までの所要時間」を計測した。その方法は、各試験方法ごとに5名のパネル(検体の免疫学的検査の未経験者)を選んで両試験をおこなわせ、所要時間を計測

50

した。なお、所要時間の計測は30秒単位でおこなった。すなわち、5分から5分30秒の間に終了すれば5分30秒を、5分30秒から6分の間に終了すれば6分を、それぞれ所要時間とした。試験結果を表3に示す。

(2) 試験結果

【0040】

【表3】

	所要時間（各5名の平均値）
従来法	10分06秒
本発明法	5分06秒

10

(2) 所見

表3から、本発明法は、従来法に比べて、検査所要時間を格段に短縮できることが確認された。

【産業上の利用性】

【0041】

以上、詳細に説明するとおり、本発明に係る検体の検査方法とその方法に用いる検査器具は、臨床検体、例えば、血液、尿、便、鼻孔・鼻腔・咽頭・鼻咽頭などを由来とする鼻汁液や鼻汁吸引液、痰或いはスワブ検体として収集された分泌液などの各種の検体を免疫学的に検査するのに有用であり、例えば、インフルエンザウイルスなどの感染症の検査や緊急簡易検査に用いるのに好適である。特に、ヒトインフルエンザA型ウイルス又はヒトインフルエンザB型ウイルスの存在を短時間のうちに検出し、かつ、鑑別するための方法及びそのための器具として大いに有用である。

20

【図面の簡単な説明】

【0042】

【図1】実施例1の検体の検査方法及び検査器具の説明図

【図2】Aは、実施例1で用いる検体収容容器を注入用容器に回転自在に嵌合させた状態を示す説明図、Bは、検体収容容器を注入用容器に密着させた状態を示す説明図

30

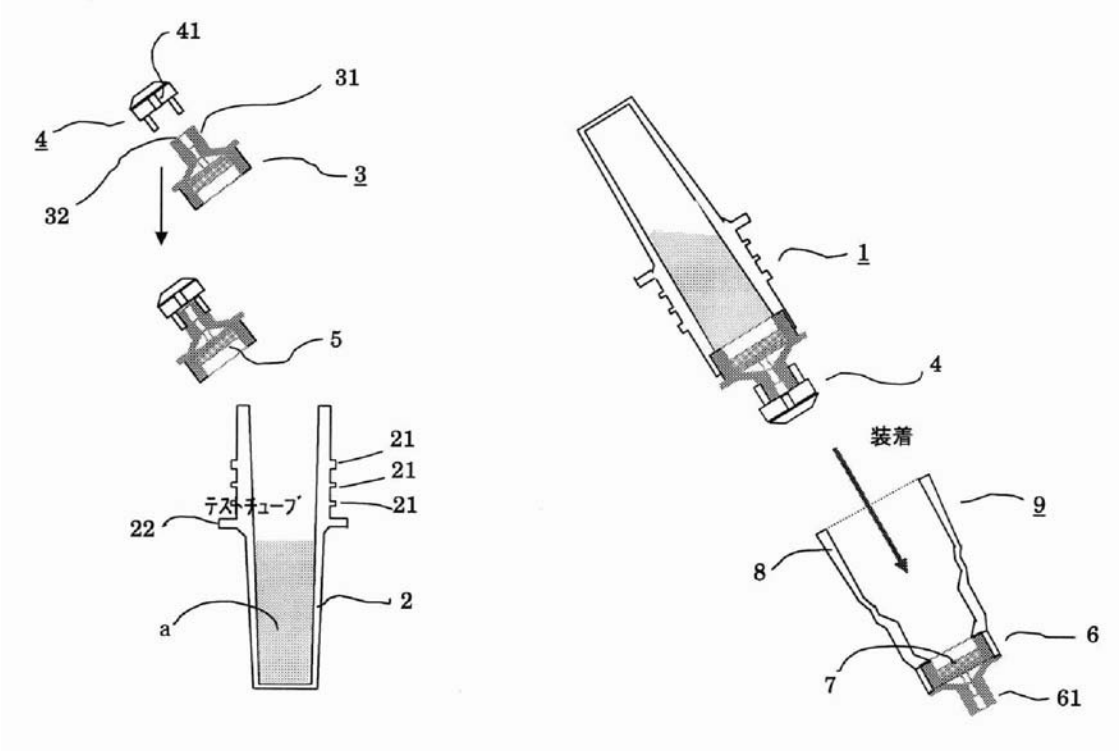
【符号の説明】

【0043】

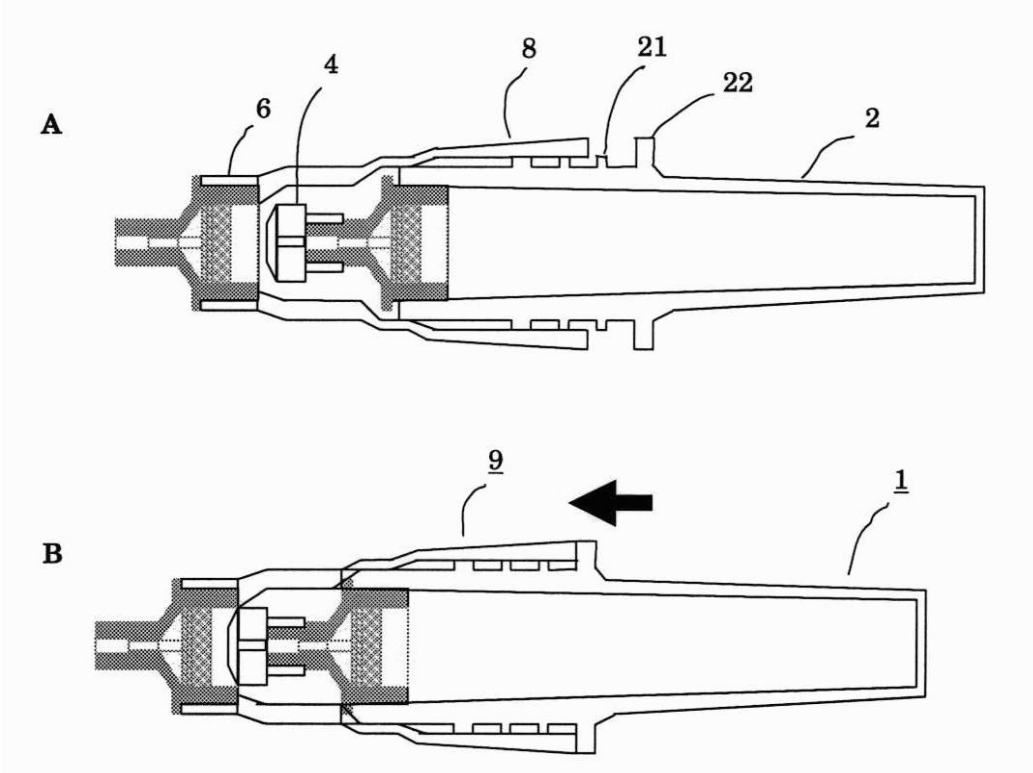
1：検体収容容器、 2：検体収容容器の容器本体、 21：その外壁に設けたリブ、
22：ストッパー、 3：第1キャップ、 31：そのノズル状部、 32：その細い溝、
4：攪拌子、 41：攪拌翼、 5：第1フィルター、 6：第2キャップ、
61：そのノズル状部、 7：第2フィルター、 8：注入用容器の容器本体、
9：注入用容器、 a：希釈検体液

40

【 図 1 】



【 図 2 】



フロントページの続き

- (72)発明者 川本 道子
茨城県龍ヶ崎市向陽台 3 - 3 - 1 第一化学薬品株式会社・診断薬研究所内
- (72)発明者 牛澤 幸司
茨城県龍ヶ崎市向陽台 3 - 3 - 1 第一化学薬品株式会社・診断薬研究所内
- (72)発明者 上田 勝弘
茨城県西茨城郡岩間町吉岡 1 1 6 - 2 6 上田プラ技術事務所内

专利名称(译)	用于该方法的样本和检查仪器的免疫学测试方法		
公开(公告)号	JP2005249388A	公开(公告)日	2005-09-15
申请号	JP2004055710	申请日	2004-03-01
[标]申请(专利权)人(译)	积水医疗株式会社		
申请(专利权)人(译)	第一化学药品株式会社		
[标]发明人	小堀樹一郎 川本道子 牛澤幸司 上田勝弘		
发明人	小堀 樹一郎 川本 道子 牛澤 幸司 上田 勝弘		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/536		
FI分类号	G01N33/569.L G01N33/536.A G01N33/48.A G01N33/48.E		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/BA13 2G045/BB04 2G045/BB41 2G045/CA25 2G045/CB03 2G045/CB04 2G045/CB08 2G045/FA18 2G045/FB03 2G045/FB07 2G045/FB17 2G045/GC12 2G045/HA14		
代理人(译)	后藤早苗		
其他公开文献	JP4262616B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种用于简化检查方法，缩短检查所需时间并进行准确诊断的方法，以及一种用于检查的简单仪器。 解决方案：装有第一瓶盖3的样品存储容器1装有注入了标记抗体的过滤器5，该样品存储容器1装在注入容器9中，稀释后的样品液体a从样品存储容器排放到注入容器中并排放。液体在注射容器中搅拌混合后，将其排出并注射到测试装置中，观察反应。使用容器进行样品的免疫学测试，在该容器中集成了在过滤的同时添加标记的抗体，搅拌样品的滤液以及在进一步过滤的同时将搅拌的溶液注入测试装置的操作 办法 用于这些样品的检验装置。这些检查方法和检查工具适用于流感病毒等传染病的检查以及紧急情况的简易检查。 [选型图]图1

