

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610101687.3

[51] Int. Cl.

G01N 33/80 (2006.01)

G01N 33/86 (2006.01)

[43] 公开日 2007年2月7日

[11] 公开号 CN 1908670A

[22] 申请日 1997.2.2

[21] 申请号 200610101687.3

分案原申请号 200410006872.5

[30] 优先权

[32] 1996.2.2 [33] US [31] 595719

[71] 申请人 奥索临床诊断有限公司

地址 美国纽约州

[72] 发明人 W·米尔彻尼奥斯基 M·祖列克

K·J·雷斯 D·E·比尔托尔德

L·戴维斯 T·M·塞卡维杰

D·M·戴维斯

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 黄可峻

权利要求书3页 说明书19页 附图9页

[54] 发明名称

凝集反应以及分离容器

[57] 摘要

本发明公开了一种用于进行血细胞凝集测定的容器。一个屏障在温育期间将反应剂保留在上室中,然后,响应一个力的作用,使试剂进入含有用于分离凝集物的基质的下室。

1 一种用于进行凝集测定的容器, 包括:

a) 一个具有一用于接收流体反应剂的开口的上室;

b) 一个用于接收来自上室的流体并含有用于分离凝集物的基质的下室;

以及

c) 一个将上室和下室分开的屏障, 此屏障在正常的重力和大气压条件下可将流体保持在上室中, 而在大于大气压力的压力下可使流体从上室流入下室, 这种屏障包括一种螺旋形结构。

2 权利要求1的容器, 其中所述螺旋形结构具有一个由螺纹、中心轴以及柱壁限定出的通路, 此通路小得足以在正常的重力和大气压力下将流体保持的上室中。

3 权利要求2的容器, 其中螺旋形结构包括一个螺旋形插件。

4 一种用于进行凝集测定的容器, 包括:

a) 一个具有一用于接收流体试剂的开口和一穿孔的上反应室, 此穿孔由一个具有一螺旋形几何形状的插件限定出, 从而在重力和大气压力下可将流体保持在所述上反应室中; 以及

b) 一个通过螺旋形插件与上室相通的下室, 所述下室含有用于分离凝集物的分离基质。

5 根据权利要求4的容器, 其中螺旋形插件是聚丙烯或rexolite。

6 一种用于进行凝集测定的容器, 包括:

a) 一个用于接收并保留流体样品和试剂的第一室;

b) 一个与第一室相通、用于从第一室接收流体的第二室, 所述第二室含有用于分离凝集物的分离基质; 以及

c) 一个将所述第一和第二室分开的屏障, 此屏障在正常的重力或大气压力下能够阻止流体从第一室进入第二室, 而在比大气压力大的压力下可使流体从第一室流入第二室, 其中所述屏障包括一个螺旋形插件。

7 根据权利要求6的容器, 其中螺旋形插件包括一个直径小得足以在正常的重力和大气压力下将流体保持在第一室中的通路。

8 根据权利要求7的容器, 其中螺旋形插件的直径在大约0.110至

0.140 英寸的范围内。

9 根据权利要求8的容器，其中螺旋形插件轴的直径大约为0.030至0.090英寸。

10 根据权利要求9的容器，其中螺旋形插件每英寸大约有6至30个螺纹。

11 一种用于进行凝集测定的容器，包括：

a) 一个具有一用于接收流体反应剂的开口的上室；

b) 一个用于从上室接收流体并含有分离凝集物的基质的下室；以及

c) 一个将上室与下室分开的屏障，此屏障在正常的重力和大气压条件下可将流体保持在上室中，而在大于大气压力的压力下可使流体从上室流入下室，其中所述屏障包括一个隔板。

12 权利要求11的容器，其中所述隔板具有一个小得足以在正常的重力和大气压力下将流体保持在上室中的中心孔。

13 权利要求12的容器，其中隔板是硅橡胶的。

14 一个用于进行凝集测定的容器，包括：

a) 一个具有一用于接收流体反应剂的开口的上室；

b) 一个用于从上室接收流体并含有分离凝集物的基质的下室；以及

c) 一个将上室和下室分开的屏障，此屏障在正常的重力和大气压条件下能够将流体保持在上室中，而在大于大气压力的压力下可使流体从上室进入下室，其中所述屏障包括一个多孔活塞。

15 权利要求14的容器，其中所述多孔活塞具有从其中穿过的通路，这些通路小得足以在正常的重力和大气压力下将流体保持在上室中。

16 权利要求15的容器，其中多孔活塞是聚丙烯的。

17 一种用于防止试剂或溶液从凝集测定盒的一个柱转移到所述盒的另一个柱中而造成交叉污染的衬套，其中所述衬套包括一个主体和至少一个从其上伸出的锥形部件，所述锥形部件在其狭窄的顶端具有一个孔，所述锥形部件在与所述狭窄顶端分开的位置上具有密封装置。

18 权利要求17的衬套，其中锥形部件包括一个具有所述狭窄顶端的第一端和一个从所述主体附近分开的第二端，其中所述密封装置位于所述第二端上或在其附近。

1 9 权利要求1 8 的衬套，其中密封装置包括一个环绕所述锥形部件的O形环。

2 0 权利要求1 9 的衬套，其中密封装置包括一个与所述锥形部件合为一体的O形环。

2 1 权利要求2 0 的衬套，其中六个锥形部件从所述主体上呈直线伸出。

2 2 权利要求2 1 的衬套，其大小与盒的反应容器相匹配。

2 3 权利要求2 2 的衬套，其中衬套是丙烯酸的。

2 4 一种衬套，包括一个主体和六个从其上伸出的锥形部件，其中每个锥形部件包括一个与所述主体间隔开并在其狭窄顶端具有一穿孔的第一端和一个与所述第一端间隔开的第二端，所述第二端具有一个O形环围绕所述锥形部件并与其成为一体。

2 5 一种金属箔密封的包括六个在其内呈直线排列的反应容器的盒，以及一种包括一个主体和六个从其上呈直线伸出的锥形部件的衬套，其中锥形部件包括一个适于刺穿所述金属箔密封件的狭窄尖端，而此时被插入的这种衬套摩擦地安装在所述盒中，以便密封盒与衬套之间的接合部分。

2 6 权利要求2 5 的金属箔密封的盒及衬套，其中用于密封所述接合部分的装置是环绕所述每个锥形部件并与其成为一体的O形环。

凝集反应以及分离容器

本申请是申请号为 200410006872.5、申请日为 1997 年 2 月 2 日的中国专利申请的分案申请。

申请 9 7 1 1 0 9 1 6.8 是申请号为 0 8 / 0 9 3, 1 0 6、申请日为 1 9 9 3 年 7 月 1 6 日的美国专利申请的部分后续申请, 而这篇美国专利申请是申请号为 0 8 / 0 9 2, 1 5 7、申请日为 1 9 9 3 年 7 月 1 5 日、现已放弃的美国专利申请的后续申请。

技术领域

本发明涉及凝集测定法领域, 尤其涉及用于进行凝集测定并分离凝集物的容器。

血型血清学需要在给病人输血或器官移植之前测定供血者和受血者之间的血细胞相容性。通过证实病人血清中含有的抗体与来自供血者的血细胞中的抗原之间无免疫反应而测定细胞的相容性。

在每个个体的红血球的表面上发现许多不同的血型抗原。血型鉴定通常是检验红血球以便测定抗原是否存在的过程。通常利用已知特异性的抗体来完成这个过程。

为了检验病人的血清或血浆中的抗体, 将含有具有已知抗原的血细胞的试剂与血清样品混合。将反应物温育一段时间, 当针对那些抗原的抗体存在时, 这段时间足以使红血球发生凝集。然后将混合物离心, 如果存在被凝集的红血球, 那么在反应容器的底部可清晰地目视到这些凝集物, 这样就表明样品中存在直接针对红血球上已知抗原的抗体。如果样品中不存在直接针对红血球上已知抗原的抗体, 就不会发生凝集, 这表明离心以后没有凝集的红血球。

背景技术

最近, 业已研究出这样的系统: 即在一部分容器中进行凝集反应, 而在同一容器的另一部分中利用一种将被凝集的细胞从试剂/样品混合物的其它组分中分离出来的基质来分离所凝集的红血球。在共同待审查中的美国专利申请 No. 0 8 / 4 0 7, 7 4 7 和 0 8 / 1 1 2, 4 0 2 中公开并描述了这样一个系统, 这两篇文献是号申请号为 0 8 / 0 2 3, 5 0 0 的美国专利(现在已放弃)的后续申请, 这些申请一般为本申请的占有者所拥有。因此每篇申请的内容在此一并作为参考。按照本发明的凝集反应和分离容器也可用于前述申请文本中所公开的发明中, 是由 Ortho Diagnostic Systems

Inc., Raritan, New Jersey, under the trademark BIOVUE™ 制造和销售的。这样的反应容器是有一个上室和一个下室的柱形，其中上室的直径比下室大。下室含有用于将凝集细胞从未凝集细胞中分离出来的基质。下室的直径窄得足以在将试剂和样品加入到上室中时（典型地是用移液管加入），如果不施加额外的力，试剂和样品就像留在上室中，而不会进入下室。

间接抗球蛋白试验（称作库姆斯试验）是一个用于测定病人血清中是否具有针对红血球表面上特异性抗原 Ig G 抗体的血液试验。在库姆斯试验中，在存在红血球试剂的情况下温育血清，以便使抗体与红血球表面上的抗原结合。这些 Ig G 抗体本身几乎不会使红血球凝集，或者只稍微凝集，不足以用常规技术目视检验。通常需要加入针对人 Ig G 的第二抗体，以便易于得到可观测的凝集。

在红血球分型中，一个血液试验用于测定红血球表面是否存在特定抗原，将待分析的红血球加入到上室中，随后施加一个力，例如离心力，使红血球进入含有针对特定红血球抗原的抗体和分离基质的下室。如果红血球在其表面具有与下室中的特异性抗体结合的抗原，则形成凝集物，并用基质分离凝集物。

在其它类型的血液测定法中（例如反向分型），是测定病人血清中直接凝集的、针对红血球抗原的抗体，将病人血清和其表面具有已知抗原的红血球试剂加入到上室中，并且施加一个力（例如离心力），以使反应物进入含有液体介质和分离基质但无抗体的下室。在此测定中，病人血清中所存在的直接凝集的抗体产生利用基质分离的凝集物。

在另一种类型的血液测定中，使具有已知的针对红血球抗原的特异性的抗体试剂与病人的红血球一起沉积在上室中。如果抗体试剂是直接凝集抗体，则施加一个力（例如离心力），而没有以前的温育过程，内含物被压到下室中，下室含有处于水溶液中的分离基质。然后用基质分离凝集物。另外，还可使病人的红血球沉淀在上室中并加入具有已知特异性的 Ig G 抗体试剂，随后进行温育，以便使抗体结合到红血球表面上预定的抗原上。温育以后，施加一个力（例如离心力），以便使反应物进入下室，下室含有分离基质和特异于用于温育上室中的红细胞的 Ig G 抗体试剂的抗-Ig G 抗体。如果抗体试剂存在于病人的细胞表面上，则下室中的抗-Ig G 抗体易于形成利用基质分离的凝集物。

在将样品和试剂温育一段足够的时间，以便发生直接凝集（如在细胞分型试验中）或抗体-抗原反应（如在库姆斯试验中）之后通过离心给反应容器加压，

从而使反应物被挤到柱的下部并在分离基质上。离心的结果是，未凝集的物质通过分离基质向下迁移，而所凝集的细胞保留在分离基质的上面或者根据凝集程度在基质内分布。较强的凝集反应导致细胞保留在接近分离基质的上部位置上，而较弱的凝集反应导致凝集物分布在与基质上面具有各种不同距离的位置上。

温育期间样品和试剂之所以保留在柱的上部是穿过柱下部的端头的表面张力的结果，其中柱下部的直径相对于上部是减小的。业已指出用此柱进行测定时两个潜在的误差源。首先，如果用过渡的力将试剂和样品直接滴到反应室的中心，则反应物可直接沉淀在下室中的分离基质上面并且在温育期间没有保留在上室中。这样，反应物在完成凝集之前开始进入分离基质。其次，含有分离基质的稀释剂或溶液有可能进入上室。例如在运送或操纵容器时通过泼溅或其它干扰能产生此误差。在含有分离基质的溶液或稀释剂还有抗体或其它直接影响试验结果的试剂时，这样的泼溅会导致用来自其它柱的某些试剂对柱造成交叉污染。此现象发生在当使用者将移液管尖头插入反应室时，泼溅的试剂污染了尖头，此尖头然后又通过移液管转移到另一容器中。这可导致凝集测定中的错误结果。

发明内容

因此，本发明的一个目的是提供一种在凝集测定的温育期间保持样品和试剂分离的改进的机构。本发明的再一个目的是提供用于防止柱下部中含有的物质移位的装置。

本发明提供了一种改进的用于进行凝集反应并分离凝集物的容器。该容器包括一个容纳反应物的上室、一个分离凝集物的下室和一个分离腔室的屏障装置，此屏障在将上室的内含物引入到分离基质上之前，能使反应物保留在上室中，并且当一个力（即，大于大气压力）施加到屏障上时，可使上室的内含物从上室迁移到下室中。在一个优选的实施例中，该屏障在上下室之间包括一个狭窄的通路。在制造期间通过将具有狭孔的插件、卷边或螺旋形或其它类似几何形状的插件浇铸或插入上下室之间可形成狭窄通路。这种插件提供了一个可减小下、下室之间的孔尺寸的物理屏障，从而避免下室的内含物污染上室。而且，插件还使样品和试剂在温育时分离。当插件是螺旋形时，由螺旋的螺丝、中心轴和柱壁限定的通路小得足以在正常重力和大气压力下使液体保留在上室中。例如，螺旋形插件的直径在大约0.110 - 0.140英寸的范围内。螺旋形插件轴的直径大约为0.030 - 0.090英寸。螺旋形插件每英寸大约有6 - 30个螺纹。

通过对柱进行超声焊接，随后用试剂装载柱也可形成狭窄通路。通路还可

包含一个隔板形屏障。在本实施例中，隔板有一个小得足以在正常重力和大气压力下将流体保留在上室中的中心孔。隔板最好是硅橡胶的。通路还可包含一个多孔塞形的屏障。多孔塞具有穿过其的通路，这些通路小得足以在正常重力和大气压力下将流体保留在上室中。多孔塞最好是聚乙烯的。

在另一个实施例中，本发明包括一个衬套，该衬套是具有一个穿过狭窄尖端的孔的锥形部件形式。在将样品吸移到容器中之前，此衬套被放置在尖端并伸入反应容器柱，从而避免了一个容器中的稀释剂或溶液进入另一容器而造成的交叉污染，否则，在移液过程中另一容器可能被交叉污染。在吸移试剂之前最终用户便利地将所述衬套插到柱的顶端。衬套可是具有六个并排排列的锥形部件或池子的一个单元形式。衬套的总面积和形状与 BIOVUE™ 盒的顶侧相同。

衬套包括一个主体和至少一个从主体中伸出的锥形部件，其中所述锥形部件在其狭窄的顶端有一个孔，并且所述锥形部件在与所述狭窄顶端间隔开的位置上有密封装置。锥形部件包括一个具有所述狭窄顶端的第一端和一个与靠近主体的位置间隔开的第二端，其中所述密封装置位于第二端上或在第二端附近。密封装置包括一个环绕所述锥形部件的O形环，并且O形环可与锥形部件连为一体。在一个优选的实施例中，衬套有六个从主体上呈直线状伸出的锥形部件，并且衬套的大小与盒的反应容器相匹配。衬套最好是丙烯酸的。

本发明进一步设想利用一金属箔密封的、包括在其中呈线性排列的六个反应容器的盒，以及一个包括一主体和六个从其上呈线性伸出的锥形部件的衬套，其中锥形部件包括一个适于穿过所述的金属箔密封件的狭窄尖端。并且这时被插入的这种衬套摩擦地啮合在所述盒中，以便密封盒与衬套之间的接合部分。用于密封接合部分的装置是环绕每个锥形部件的O形环并且最好与每个锥形部件合为一体。

附图说明

图1示出了具有一插件的反应和分离容器，此插件在上反应室中具有一狭窄的穿孔。

图2是有六个反应容器的盒的顶视图，其中贮容器无插件，一个容器（左起第二个）含有一个如图1所示的插件，一个容器（左起第三个）含有反应剂。

图3是沿图2的3-3线的具有反应容器的盒的剖面图。

图4是具有反应容器的盒的侧视图。

图5是沿图2的5-5线的剖面图，示出了一个在反应容器的上室内具有一狭窄穿孔的插件。

图 6 示出了具有一狭窄穿孔的反应容器的上室。

图 7 示出了具有一伸出部分的插件，此伸出部分在下室中具有一穿孔。

图 8 是沿图 3 的 8 - 8 线的剖面图。

图 9 示出了在上室之下已被卷边的反应和分离容器。

图 10 是沿图 9 的 10 - 10 线的剖面图。

图 11 是在上室 2 中具有一螺旋形插件 1 的反应和分离容器的侧视图，上室的下部 3 已被改进，用于容纳所述插件。

图 12 是螺旋形插件的构造的侧视图；(A) 示出了总直径 1 为 0.120 英寸而内轴直径 2 为 0.060 英寸的插件；(B) 示出了总直径 1 为 0.120 英寸而内轴直径 2 为 0.08 英寸的插件。

图 13 是总直径 1 为 0.120 英寸而内轴直径为 0.06 英寸的螺旋形插件的侧视图。

图 14 示出了装入反应容器柱的上室中的衬套的一个池子。每个锥形部件或池子在衬套主体之下的池子周围具有 O 形环 1。

图 14A 是一种设计成装入反应容器柱的上室中的衬套的一价目池子的平面图。每一个池子都有一个位于衬套主体之下的池子周围的 O 形环 1。该图示出了衬套池子的狭窄的有尖形顶端的角度的，这样设计是为了能刺穿盒的密封件。

图 14B 是衬套的一个池子的顶视图，最里面的圆圈进一步图示了通过它的穿孔。

图 14C 是衬套的一个池子的平面图，示出了衬套顶端的角度的，这样设计是为了刺穿密封的盒。

图 15 示出了包括六个具有尖形顶端的锥形部件或池子的衬套，所述尖形顶端装入具有六个反应容器柱的盒的上室中。每个部件在衬套主体之下的部件周围具有 O 形环 1。每个部件还有尖端 2 用于刺穿覆盖盒的反应容器柱的金属箔密封件。

图 15 A 是包括六个锥形部件或池子的衬套的顶视图。

图 15 B 是一个单独的衬套池子的平面图，示明了设计成刺穿密封的盒的衬套顶端的角度的。

图 15 C 是包括六个具有尖形顶端的锥形部件或池子的衬套的平面图，所述尖形顶端通过刺穿盒的密封件来装入具有六个反应容器柱的盒的上室中。

按照本发明，将以各种不同的实施例形式来描述用于进行凝集反应并分离凝集物的容器。通过对凝集反应和由 Ortho Diagnostic

Systems Inc., Raritan, New Jersey, under the trademark BIOVUE™ 生产和销售的盒形分离容器的描述可清楚地理解本发明的某些实施例。

本发明的容器可用任何不干扰凝集反应或分离以及目视结果的适宜材料(例如玻璃或各种塑料)制成。在一个优选的实施例中,容器是由聚丙烯制成的。

容器的上室可是任何形状和尺寸,用于在进行温育的时候容纳试剂和样品。典型地,上室在上面大多数部分上是圆柱形的。上下室之间的屏障通常限定出上室的下界面和下室的上界面。在一个优选实施例中,形成上室的下部的屏障是锥形的,并且其顶端伸向或伸入下室,如图1、5、6、7所示。屏障的一部分用于在温育期间在正常的重力和大气压力条件下保留上室的试剂和样品,而当施加一个力(例如增大的压力或离心力)时,可使流体从第一室流到第二室。这可通过各种装置,例如小孔、膜、活塞、阻塞物、具有任何几何形状的插件、或滤网、以及任何这些装置的组合来完成。在一个优选实施例中,屏障包括一个孔,此孔的直径小得足以在正常重力或大气压力下避免流体从第一室流到第二室,而在增大的压力下使流体流过。孔1位于上室的锥形部分的顶端,既可在插件2中(如图1、5或7所示)也可在上室中含为一体(如图6所示)。

小孔的直径小得足以使上室中的流体的表面张力在正常重力或大气压力下避免流体从上室流到下室,而在增大的压力或重力下,可以克服表面张力,于是,内含物从上室流到下室。根据所用力的大小来改变孔的直径,即,当施加较大的力时孔直径较小,而施加较小的力时孔直径较大。直径还可以改变,以便适应试剂中不同大小的颗粒。在一个优选的实施例中,孔的直径在大约0.010-0.050英寸的范围内。在一个特别优选的实施例中,孔的直径为0.020英寸。

在另一个实施例中,分离上下室的屏障装置包括一个螺旋形插件;此螺旋可是螺丝形构造。虽然也可用椭圆形构造,但是螺旋最好在直径上是圆形或圆柱形的。类似于以上描述的小孔,由螺旋的轴、螺纹,以及室壁限定出的通路其直径小得足以在正常重力或大气压力下阻止流体从上室流到下室,而在增大的力或压力下又可使流体流动。插件的又一个作用是减小了稀释剂或溶液从下室泼溅到上室中,由此污染上室的可能性。例如在运送和操作期间可发生这种泼溅。螺旋在上室中位于如图11所示的上室的底部3上,或者在此位置与反应容器浇铸为一体。

在螺旋形插件个别地插入到上室的情况中,可用任何不干扰凝集反应或分

离或目视结果的适宜材料（例如玻璃或塑料）铸成插件。材料最好是塑料，例如聚丙烯、聚酰胺（例如尼龙）、乙酸树脂（例如Delrin™ 或 Delrin P™）、交联的聚乙烯/二乙烯基苯（例如Rexolite™）、聚碳酸酯或聚乙炔。在一个优选的实施例中，材料是聚丙烯。

螺旋可是任何这样的几何形状：即，使上室中流体的表面张力在正常重力或大气压力下阻止流体从上室流入下室，而在增大的压力或重力下，又可克服表面张力，于是，内含物从上室流入下室。例如，螺旋螺纹的螺距角可是任何这样的角度：即，在增大的压力下可使流体（例如含有血球）从上室流到下室，同时避免了来自下室的流体或基质污染上室。可根据所用力的大小来改变螺距角，即当施加较大的力时由螺旋轴和螺纹以及室壁限定的区域较小，而当施加较小的力时此区域较大。还可改变螺旋的几何形状，以便适应试剂中不同大小的颗粒。而且，插件增强了避免柱的内含物（含有分离基质和稀释剂或溶液）泼溅到上室内的可能性。

在本发明的螺旋形插件的实施例中，仅用这种螺旋阻止来自下室的流体对上室造成污染的效果（数值范围的低端）以及在增大的压力下样品（例如红细胞）通过螺旋的能力（数值范围的高端）即可限定每英寸的螺纹数目和螺纹深度。由于前述原因，为了使通过屏障装置的红细胞和其它凝集物易于通过，最好使限定通路的螺纹、中心轴和柱壁在质地上和最后阶段较为平滑。面对柱壁的螺旋形插件的螺纹部分的壁可是尖的或平的。

在一个优选实施例中，螺旋为了用于包括六个反应容器的目前通用结构的BIOVUE™盒中，其每英寸大约有6-30个螺纹，更优选的是每英寸大约有12-20个螺纹，从一个螺纹顶部到以下较低螺纹的顶部所测定的螺距在大约为0.033到约0.166英寸的范围内，更优选的是大约为0.050到约0.083英寸。

螺旋形插件的总直径在大约0.110到约0.140英寸的范围内，更优选的是大约为0.120到约0.130英寸。

螺旋形插件轴在大约0.030到约0.090英寸的范围内，更优选的是大约为0.060到约0.080英寸。转而参考图11、12和13所示，这几幅图示出了插入部件的相对几何形状。参照图13，如下示出了近似几何形状（单位：英寸）：

螺纹/英寸	DI M3	DI M6
1 2	0 .0 8 3	0 .0 2 0
1 4	0 .0 7 0	0 .0 2 0
1 6	0 .0 6 0	0 .0 1 5

作为放入如图1 1所示的上室的改进了的下部的圆形直径螺旋形插件的一种替换物, 在此还可以用具有类似几何形状的螺距的椭圆形螺旋。如前面对圆形直径螺旋形插件的描述, 椭圆形屏障装置既可是个插件形式的也可是与室浇铸成一个单元的螺旋形阻塞物。

作为又一种替换, 可通过将试剂装入柱之后对柱进行超声焊接来形成上下室之间的狭缩通路。另外, 屏障可包括一个位于下室或柱的顶端的多孔材料制成的盘或活塞。活塞是圆柱形的, 其大小可安装在上下室之间, 适于阻止下室的内含物(例如试剂和分离基质)泼溅到上室中。多孔活塞还适于防止样品过早地(例如在离心之前)通过, 而应该是样品在大于大气压力的压力下(例如在离心下)通过活塞。多孔活塞可用任何不干扰凝集反应或分离、或任何目视结果、或与其中的任何组份没有特异性结合的材料制成, 这些材料的例子有玻璃, 特别是闪烁玻璃, 还有塑料(例如聚丙烯)。

其它适宜的屏障有固在螺旋中的凸缘、围绕室内壁的梯段式格栅、或其它类似的扭曲路径, 这些屏障形式都具有如前所述的阻止上室内含物被污染的作用。屏障还可是放置在柱内的环形阀或隔板。这种隔板例如可以有一个中心孔或穿孔, 并且从柱壁到中心穿孔给隔板径向划线。在施加力时, 隔板打开, 使样品内含物从上室流入下室。隔板可用任何不干扰凝集反应或分离、或任何目视结果的适宜材料制成。隔板可用任何适宜的柔韧的可塑材料(例如硅橡胶)制成。

当本发明的容器用于进行凝集反应和分离时, 将试剂和样品加入到上室中进行温育。屏障进行温育的时候将样品和试剂保留在上室中。在一个优选的实施例中, 屏障有一个孔, 或者屏障是螺旋形插件形式, 孔的直径或螺旋的几何形状分别小得足以使液体和样品穿过孔或螺旋的表面张力在正常重力和大气压力下将内含物保留在上室中。足够的温育时间之后, 利用任何不同的方式(例如离心、加压或吸收)基本上沿从上室到下室的轴向给屏障施加一个力。这个力必须足以克服屏障并使上室中的内含物进入下室。在一个优选的实施例中,

屏障包括一个孔, 或者屏障装置包括一个螺旋形插件, 表面张力可被力克服, 并且内含物从上室进入下室流到分离基质中。

屏障的重要之处还在于它减小了下室中的稀释剂或溶液对上室污染的可能性, 否则, 例如在运送和操作期间由于泼溅或其它干扰会发生这种污染。

本发明的另一实施例是一个在加入样品之前可插入反应容器顶部的衬套。此衬套包括一个主体和一个或最好是多个从主体上伸出的部件或池子, 这种池子是锥形或漏斗形的。当将含有一个孔的池子的狭窄顶端插入盒子中时, 其朝着容器的内部定向, 如图1 4 和1 5 所示。衬套应用到有或无屏障装置 (例如卷边或插件) 的容器中。在一个优选实施例中, 衬套包括一个具有一个穿孔的池子, ①此孔的直径小得足以阻止要输送到容器中的样品, 直到容器受到力 (例如通过离心) 的作用, 而且温育时间不会被顶端与柱内的分离基质之间的空气间隙的绝热作用所延长; 或者②此孔大得足以使待输送的样品容易地流入反应容器室内, 而且允许试验系统过早地与试剂的泼溅液接触。衬套的池子在与狭窄顶端间隔开的位置上 (例如其外部顶端)、衬套主体之下最好具有一个密封装置。关于这一点可参考图1 4 和1 5。密封装置是一个最好与衬套连为一体的凸环。衬套的池子安装到反应容器的上室中, 以便在正常的操作期间池子不会轻易地被取出。凸环或O形环在盒的上表面围绕容器的边缘安装, 这样就密封了衬套与盒子之间的接合部分。凸环或O形环阻止任何泼溅的柱内含物从一个柱到另一个柱的毛细作用。

如上所述, 当容器中没有安装插件时, 稀释剂或含有分离基质的溶液在运送或操作期间可进入上室。在这种情况下, 分离基质还含有抗体或其它直接影响试验结果的试剂, 此泼溅物会导致来自其它柱的试剂对此柱造成交叉污染。当使用者将移液管尖头插入反应容器的上室, 泼溅的试剂污染了尖头, 然后尖头又随移液管转移到另一容器中时会发生这种交叉污染。而后者在凝集测定中可导致错误的结果。

衬套的目的是防止试剂在移液过程中从一个容器到下一个容器造成的交叉污染; 在运送和操作期间试剂可向上飞溅到上室中。

衬套可是一个锥形部件或池子, 它们各自位于每个反应容器的顶端。然而, 在一个优选实施例中, 参照图1 5, 衬套是一个具有六个并列排列的锥形池、与衬套主体连为一体的独个单元。这种结构使得含有六个单个池子的一个衬套

单元位于六个反应容器的BI OVUE™盒的顶端。

参照图1 4 和1 5，衬套的每个锥形池子具有一个狭窄的尖端，尖端上有一个通过其的穿孔。当BI OVUE™容器是一个包括六个柱的盒子，并且用金属箔带密封每个柱的顶端时，在正常压力下衬套的尖端将刺穿所有六个柱上的金属箔密封带。然后通过移液将样品转移到池子中。这样，洁净的衬套池子不会受到试剂或分离基质的任何污染，否则，试剂或分离基质会接触样品，然后又被带到另一个柱子中。

最终的使用者手工操纵或者利用一个带叉尖的工具可将衬套便利地插入柱内。为了将六个池子的衬套插入BI OVUE™盒中，用衬套尖刺穿盒子的金属箔并且通过摇动衬套而完全插入盒内。由于衬套主体的面积和形状与盒的顶部表面相同，因此衬套在操作盒的过程中可方便地保持就位。以这种方式使用衬套不会干扰测定性能或结果（例如：离心、未凝集的红细胞通过分离基质的自由通路、凝集的红细胞进入柱中）然而，不带O形环的柱在使用期间不能阻止试剂对柱的交叉污染。参见例1 0 和1 1 的带O形环和不带O形环的对照性能试验。此处的结果证实O形环可阻止试剂对柱的交叉污染，这种污染是由于盒的金属箔与衬套之间的试剂“虹吸”作用，其结果是试剂通过盒的顶部流动。

可用任何不干扰凝集反应或分离的适宜材料（例如玻璃或塑料）来制造衬套和其池子。材料必须适于刺穿盒上的金属箔密封件。为了有效地将样品从衬套的池中转移到上室中，优选的是衬套的池壁在质地上和成品中都比较光滑。材料最好是塑料例如聚酯、乙缩醛、丙烯酸、丙烯腈-丁苯（ABS）、尼龙、聚碳酸酯、聚酰胺或聚丙烯。在一个优选实施例中，材料是丙烯酸。

在BI OVUE™系统中，将1 0 μl 红细胞试剂加入到4 0 μl 病人血清中并且与4 0 μl 低离子强度溶液一起在上室中温育1 0 分钟，以便使预测的病人Ig G 抗体结合到红细胞表面抗原上。分开加入这些测定成分，并且重要的是，使其保留在上室中，以便进行混合，从而使低离子强度溶液与红细胞及血清的比例在测定过程中保持恒定。屏障在正常的重力和压力下易于做到这一点。它还可减小在加样期间任何测定成分被压到下室中的机率。屏障还能使测定成分在整个温育期间保留在上室中。

屏障的重要之处还在于可阻止抗人免疫球蛋白（Ig G）抗体在与红细胞

结合之前过早地结合到预测的抗红细胞抗体上，从而减少了最后发生在下室的凝集机率。温育以后，施加离心力，使上室的内含物通过屏障进入下室，下室含有与红细胞试剂表面上的病人免疫球蛋白（IgG）结合的抗人免疫球蛋白（IgG），从而形成凝集物，凝集物不能通过基质流到下室的底部。

具体实施方式

以下的例子只是为了理解本发明，而不是对本发明范围的限定。

例1

将带有插件的BIOVUE™柱与不带有插件的柱进行比较，以便测定每种结构在温育期间用于保持将反应剂与分离基质分开的空间气隔的效果。利用具有0.040英寸的孔的插件。将40微升缓冲液加入到用于试验的840根柱子中的每一个柱子中。以与柱的垂直轴大约呈45°的角度人为地使用移液管，以便输送这40微升溶液。然后观察柱，测定反应室之下是否保持在空气间隔。表1给出了“漏出”的数目。

表1

	实验数	漏出数目	漏出百分比
带有插件的柱子	840	0	0%
不带插件的柱子	840	231	27.5%

例2

也将试剂加入到柱（有和无插件）子中并在37℃下温育10分钟。向用于试验的480根柱子的每一根柱子中加入40微升缓冲剂、40微升血清和10微升红细胞悬浮液。以大约45°的角度使用移液管，以便移取反应剂。温育一段时间之后，检查柱子，以便测定反应室之下是否保持有空气间隔。表2给出了“漏出”频率。

表2

	实验数	漏出数目	漏出百分比
带有插件的柱子	4 8 0	0	0 %
不带插件的柱子	4 8 0	1 6	3 .3 %

例3

以大约45°的角度用自动移液管将40微升缓冲剂充入柱子。自动移液管典型地比人工操作方式所用的移送力要大。填充之后进行观察，以测定在反应室之下是否保持有空气间隔。表3给出了带有插件的柱子和无插件的柱子的结果。

表3

	实验数	漏出数目	漏出百分比
带有插件的柱子	2 4 0	0	0 %
不带插件的柱子	2 4 0	1 0 3	4 3 %

例4

用一个移液管垂直地将40微升缓冲剂充入240根柱子中。由于垂直地拿着移液管，因此液流以较大的压力压迫穿孔，于是很有可能冲破将反应室与分离室分开的空气间隔。表4给出了此次试验的结果。

表4

	实验数	漏出数目	漏出百分比
带有插件的柱子	2 4 0	0	0 %
不带插件的柱子	2 4 0	1 4 4	6 0 %

例5

利用自动移液管垂直地将40微升缓冲剂也充入240根柱子的反应室中，这样比以一个角度拿着自动移液管更有可能破坏下面的空气间隔。表5给出了利用带有插件的柱子和不带插件的柱子进行这些试验的结果。

表5

	实验数	漏出数目	漏出百分比
带有插件的柱子	2 4 0	0	0 %
不带插件的柱子	2 4 0	2 0 4	8 5 %

本发明的作用在于，除了在试验的温育期间可保持反应室和分离基质之间的空气间隔之外，还可作为防止泼溅的装置，在运送和操作期间可发生此泼溅，致使下分离室的部分内含物向上飞溅到上反应室中。为了试验防止泼溅的有效性，将带有插件的盒与不带插件的盒从新泽西运送到加利弗尼亚，然后再运回来。通过航空和陆地进行运送，此过程包括装货、卸货并送到实验室。来回运送之后，检查盒子，反应室中是否有泼溅的液体。结果见表6。

表6

	实验数	有液体泼溅的柱子数目	有液体泼溅的柱子的百分比
带有插件的柱子	8 1 6	3 0	3 .7 %
不带插件的柱子	7 6 8	5 7 1	7 4 .3 %

例7

进行另一运送研究，以便测试利用具有尺寸减小的孔的插件，可减小泼溅的可能性。反应室与分离基质之间的开口直径为0 .0 2 5、0 .0 2 0 以及0 .0 1 5 英寸。用每个插件填充6 0 0 根柱子。对照组设有插件。包装盒子并进行室内代用品运送研究，即，使盒子从3 米高的地方掉下来1 0 次。控制盒子的角度，以便使容器落在所有它的六个平面以及一个角和3 个边上。此标准化实验代表运送和操作中的破坏情况。表7 中给出的结果表示孔的尺寸与泼溅减小之间的反比关系。

表7

	实验数	有液体泼溅的柱子数目	有液体泼溅的柱子的百分比
具有0 .0 1 5 插件的柱	6 0 0	7 5	1 3 %
具有0 .0 2 0 插件的柱	6 0 0	1 2 0	2 0 %
具有0 .0 2 5 插件的柱	6 0 0	1 3 2	2 2 %
无插件的柱	6 0 0	6 0 0	1 0 0 %

例8

另一种方式是通过“卷曲”盒子能减小反应室与下面的分离室之间的小孔。利用冲压可实现这一点，其中恰恰在反应室之下的盒颈被冲击。冲击的力和持续时间决定开口被减小的程度。冲击工具的形状决定开口的形状。有几种构造是可用的。在将试剂和玻璃珠装入柱中之后可在生产线上完成卷曲过程。

来自生产线上的8 1 6 根柱子被卷曲，从而如上所述，可限定反应室与分离基质之间的开口。这种卷曲导致穿过图9 中的一个括号所表示区域的剖面形状（如图1 0 所示）。这些柱和7 6 8 根未卷曲的对照组柱一起被包装并运送到加利弗尼亚，然后再从那运回来（如前所述）。表8 给出了由运送条件引起的液体泼溅到反应室中的可能性减少的结果。

表8

	实验数	有液体泼溅的柱子数目	有液体泼溅的柱子的百分比
有卷边的柱子	8 1 6	5 4 8	6 7 %
无卷边的柱子	7 6 8	5 7 1	7 4 %

例9

利用螺旋形插件屏障装置来限定反应（上）室与分离（下）室之间的小孔尺寸。螺旋形插件由聚丙烯浇铸成并且插入恰恰在改进的上室之下的盒颈中。在将试剂和分离基质（例如玻璃珠）装入柱中之后在制造过程中将螺旋形插件放入盒颈内。

例1 0

将衬套具有O形环的B I O V U E ^{T M}柱与衬套无O形环的柱进行比较，以便测定O形环是否能阻止试剂对柱的交叉污染。

通过将盒子拍打或撞在实心的工作表面上，可模仿运送盒子时在上室中和金属箔上产生泼溅。

观察衬套无O形环的192个盒子，看了衬套在插入盒的柱中之后柱内的试剂是否虹吸。一半(96)衬套是人工插入盒子内的，而另一半是利用上述讨论的双叉尖工具插入的。

观察衬套有O形环的336个盒子，看看是否有如上所述的柱内试剂的虹吸。将衬套人工插入一半(168)盒子中，而另一半(168)用双叉尖工具插入。

通过检查盒子的顶侧来目视测定柱的虹吸。通过观察盒的金属箔顶部与衬套主体下侧之间的试剂流体可测定这种虹吸效果。

表9示出了每次用于试验的盒子的总数中具有虹吸的盒子的数目和百分比。衬套插入的方法不影响使用具有O形环衬套的结果，但是影响使用无O形环衬套的结果。正如所示出的，当衬套人工插入时(盒子在倒转位置上)，具有虹吸试剂的盒的数目大约是衬套用工具插入(盒子在垂直位置上)时的双倍。

表9

衬套插入的方法	无O形环的衬套	有O形环的衬套
用工具	39 / 96 (40.6%)	0 / 168
人工	74 / 96 (77.1%)	0 / 168

例1 1

将衬套无O形环的盒子与衬套有O形环的盒子进行功能性试验比较。

模拟运送盒子，在上室中和金属箔上产生试剂泼溅，例如10所述。

如上所述，靠人为地和利用双叉尖工具这两种方式将衬套插入盒的柱中。

在一半的盒子中，利用 B I O V U E TM B i o H i t (o r t h o
D i a g n o s t i c S y s t e m s I n c . , R a r i t a n ,

NJ) 移液管将10 μ l 40%的红血球(在正常的生理盐水中)移取到每个柱子中。在另一半盒子中,将50 μ l 80%的具有如以下表10中所列的表面抗原的红血球(在正常的生理盐水中)移取到盒的柱中。在用于试验的一半盒中,使用Ortho BIOVUETM ABE国际盒(Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan, New Jersey)。在用于试验的另一半盒中,使用(Ortho BIOVUETM Btk盒(Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan, New Jersey)。ABE和BHK盒在各个柱中都具有抗体(如下面表10所示)

表10

A B E 盒		
柱	抗体	所预计的具有A ₁ r r 细胞的结果
1	抗-A	+
2	抗-B	-
3	抗-AB	+
4	抗-D	-
5	抗-CDE	-
6	对照 (稀释剂)	-
R H K 盒		
柱	抗体	所预计的具有R ₁ R ₁ K (-) 细胞的结果
1	抗-C	+
2	抗-E	-
3	抗-C	-
4	抗-e	+
5	抗-K	-
6	对照 (稀释剂)	-

当使用ABE盒时，A₁r r 细胞用作样品。当使用RHK盒时，R₁K (-) 细胞用作样品。移液从最左边的盒的柱子一直进行到右边。盒子在Ortho BIOVUE™离心机 (Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan NJ) 中以794 +/-16 x g 的力离心2分钟。然后再以1510 +/-30 x g 的力离心3分钟。评估每个具有阴性反应 (红血球未凝集) 的柱，看红细胞是否完全通过整个柱。如果，例如，抗-H抗体从ABE盒的柱1被转移到柱2并且此时才在柱2中反应，则会出现假阳性反应。

结果示于表1.1中，在具有O形环的柱中，所有预计的阳性反应都是阳性的。然而，所有预计的阴性反应并不都是阴性的。此原因虽然没有进行鉴定，但不是试剂的虹吸作用。表1.1示出了每次用于试验的盒子的总数中具有假阳性反应的盒子和柱的数目及百分比。衬套的插入方法不影响使用具有O形环的衬套的结果，但是间接影响了使用无O形环的衬套的结果，这是因为所有的假阳性反应都发生在具有可见的被虹吸的试剂的盒子中。

表1.1

衬套插入方法		无O形环的衬套	有O形环的衬套
工具 (垂直)	盒子	1 / 9 6 (1 %)	1 / 9 6 (1 %)
	柱	1 / 3 8 4 (0 .3 %)	1 / 3 8 4 (0 .3 %)
人工 (反转)	盒子	9 / 9 6 (1 0 %)	0 / 9 6
	柱	1 0 / 3 8 4 (2 .6 %)	0 / 3 8 4
总计	盒子	1 0 / 1 9 2 (5 .2 %)	1 / 1 9 2 (0 .5 %)
	柱	1 1 / 7 6 8 (1 .4 %)	1 / 7 6 8 (0 .1 %)

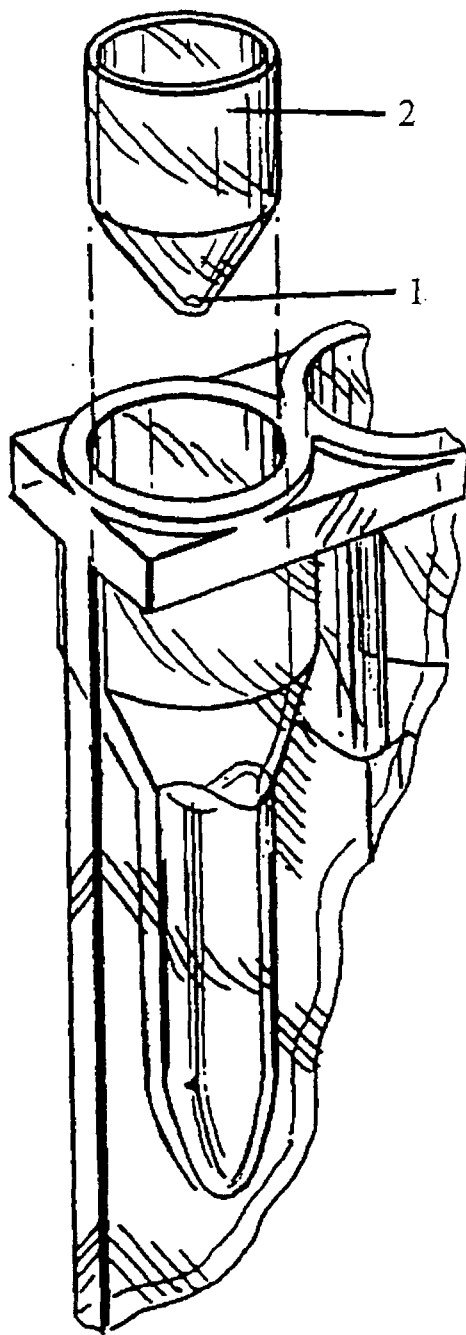


图 1

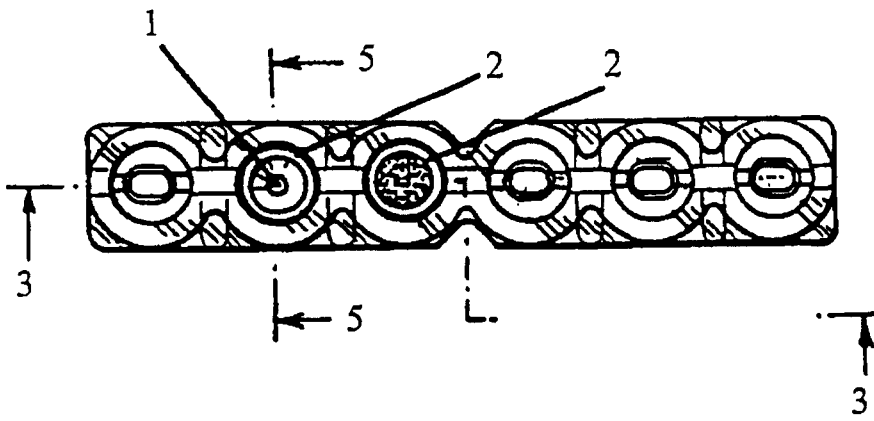


图 2

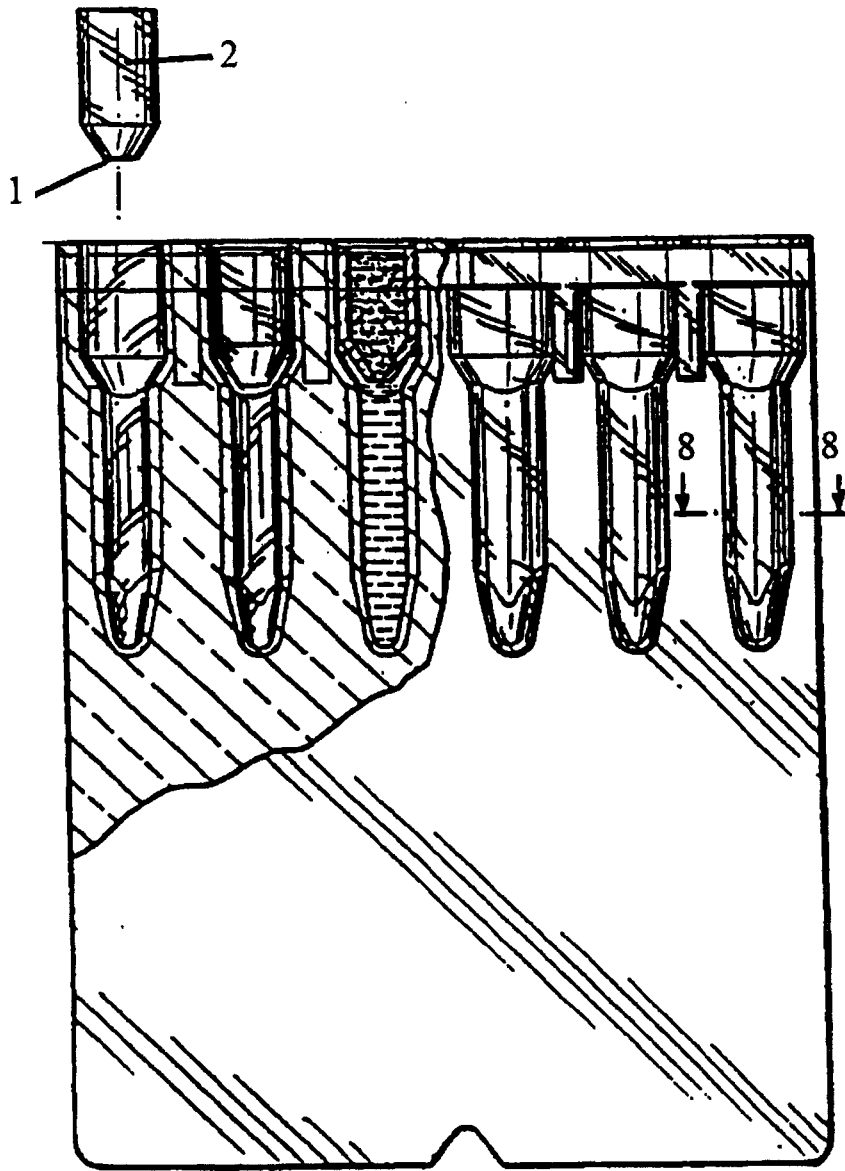


图 3



图 4

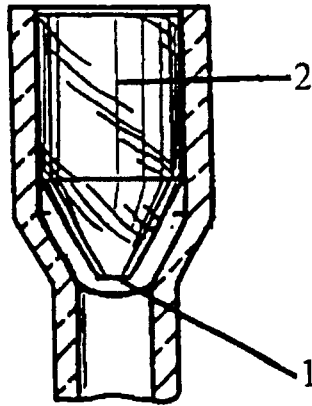


图 5

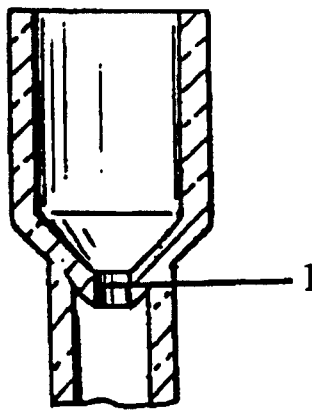


图 6

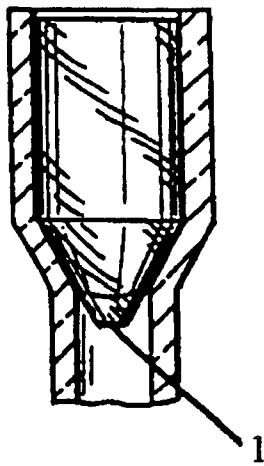


图 7

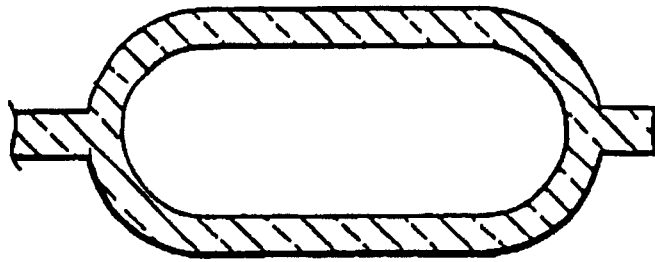


图 8

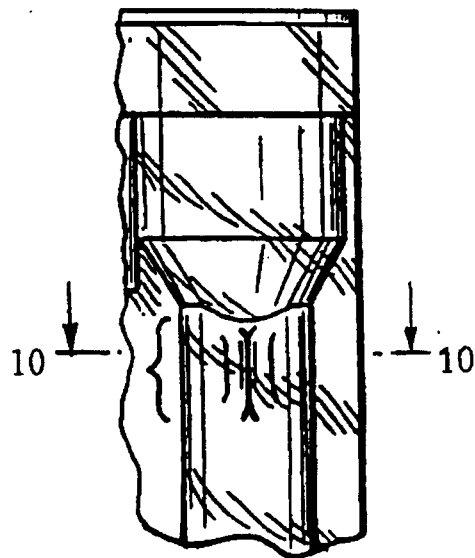


图 9

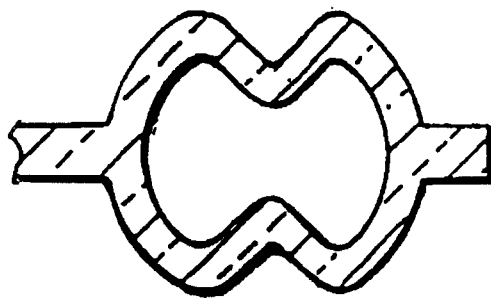


图 10

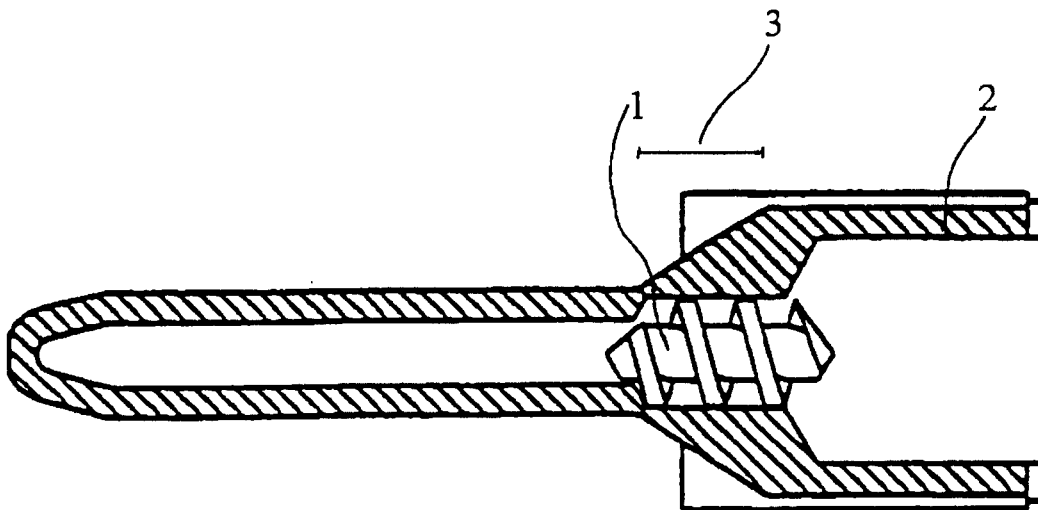
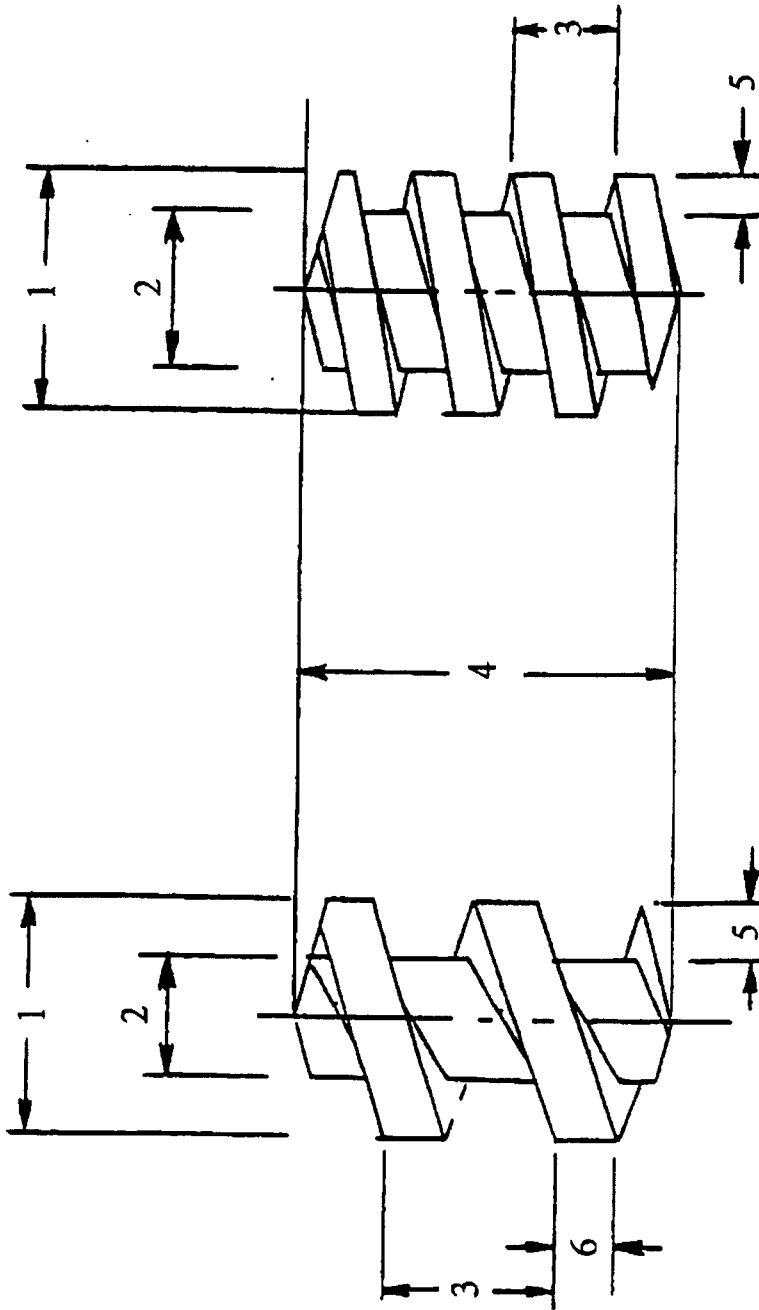


图 11



12螺纹 / 英寸-1

20螺纹 / 英寸-2

图 12A

图 12B

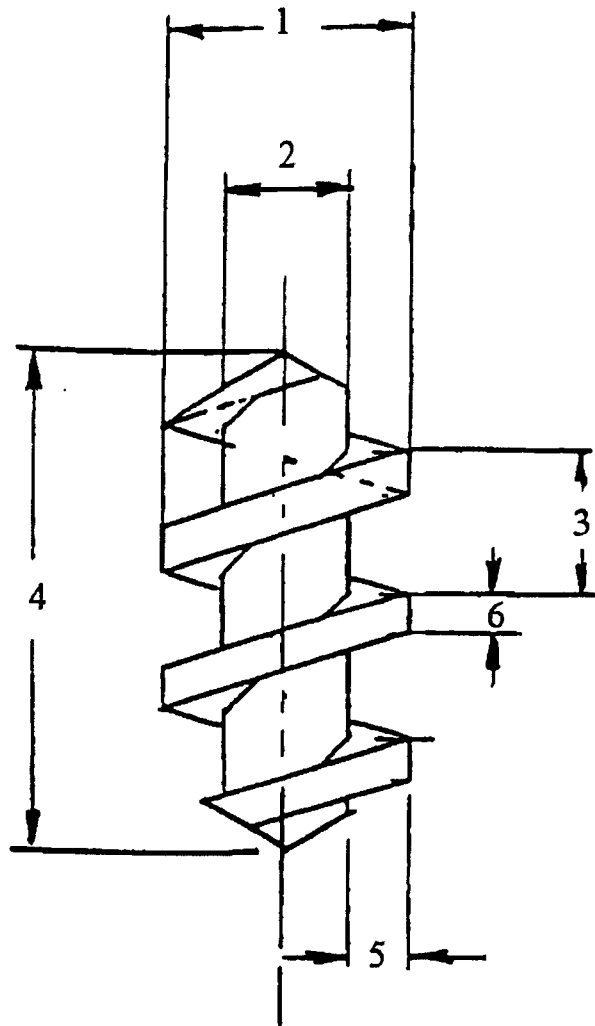


图 13

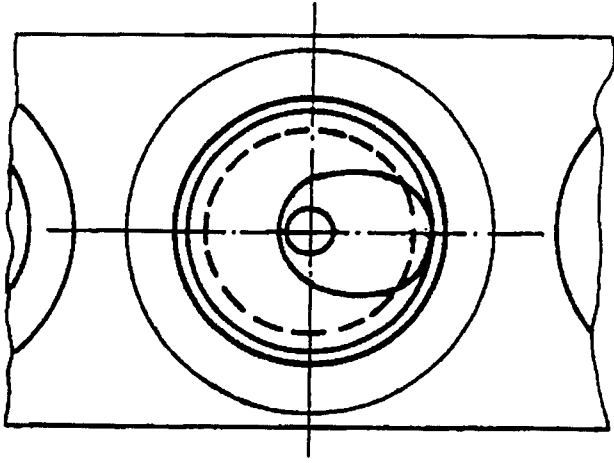


图 14B

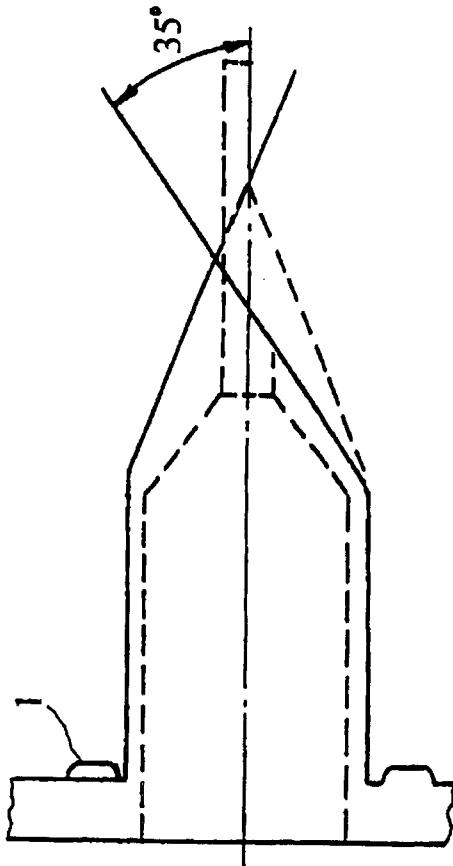


图 14A

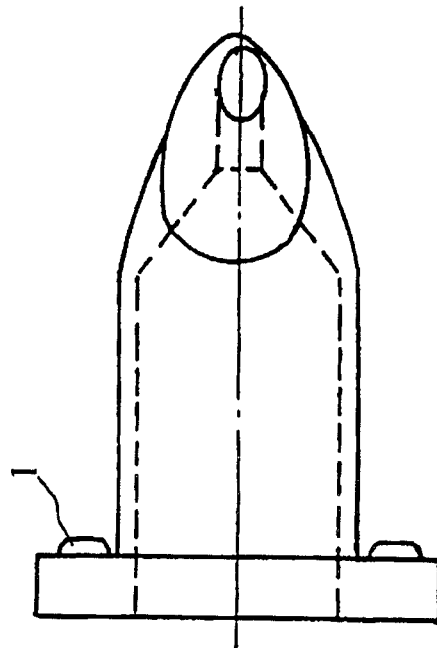


图 14C

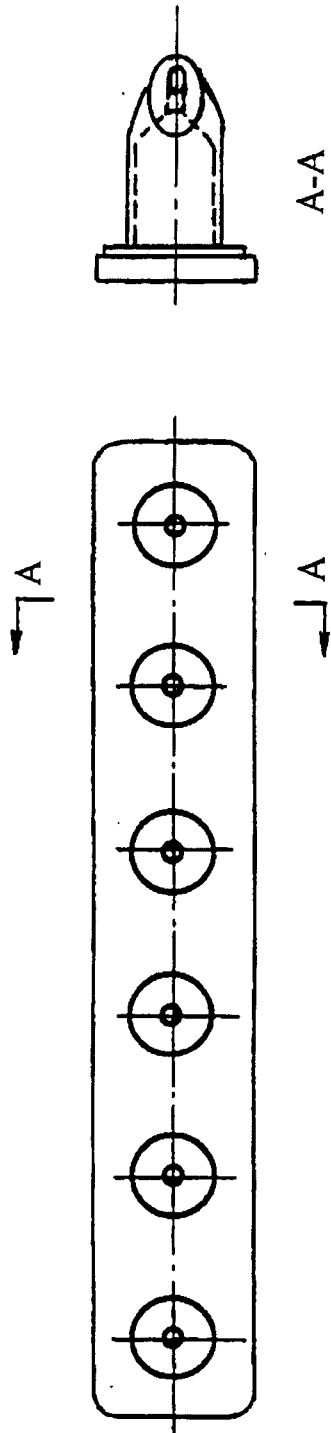


图 15A

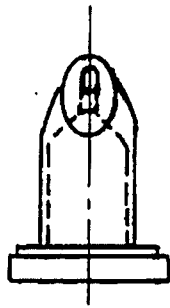


图 15B

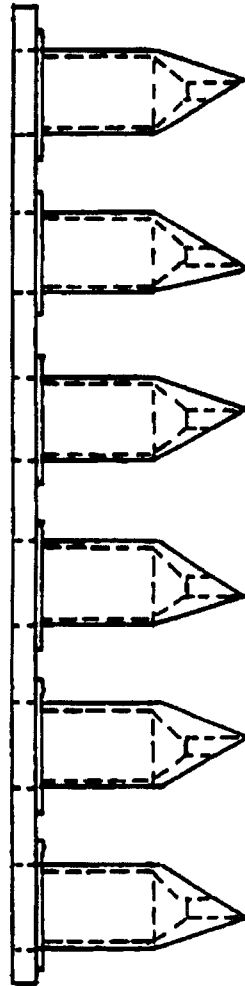


图 15C