

(19) DANMARK



Patentdirektoratet
TAASTRUP

(12) PATENTSKRIFT

(11) 168855 B1

(21) Patentansøgning nr.: 5561/87

(51) Int.Cl.5

B 01 L 3/02

(22) Indleveringsdag: 23 okt 1987

(41) Alm. tilgængelig: 25 apr 1988

(45) Patentets meddelelse bkg. den: 27 jun 1994

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 24 okt 1986 US 923117

(73) Patenthaver: Richard W. *Hanaway; 960 Carol Ann Court; Roseville; California 95661, US, James *Hrudicka; Star Route 89031; Las Vegas; Nevada 89124, US

(72) Opfinder: SAMME

(74) Fuldmægtig: Chas. Hude

(54) **Prøveudtagningsindretning med flere pipetter**

(56) Fremdragne publikationer

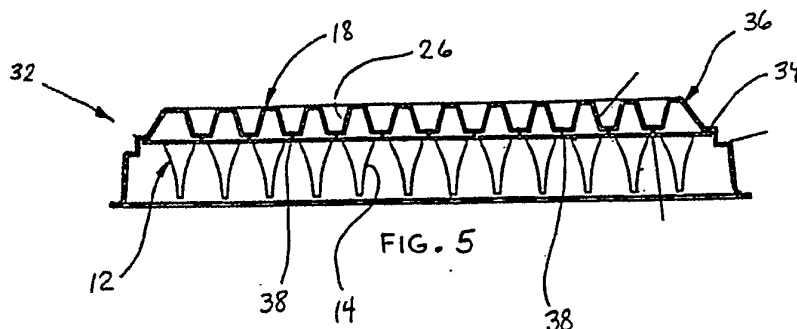
US patent nr. 4461328, 4532805, 4511534

(57) Sammen drag:

5561-87

En prøveudtagningsindretning med flere pipetter omfatter en pipetteplade (12), hvori der ved termoformning er udformet et antal pipettehulrum (14), der har form som et halv timeglas, og et hus (18), der er termoformet af en anden tynd plade og ved højfrekvenssvejsning fastgjort til pladen (12) til dannelsen af en manifold. I huset (18) værende ribber (26) forstærker pladen (12), således at den ikke kan deformeres ved trykændringer i manifolden. Et trykændringsmiddel omfattende en cylinder og et stempel (62) kan fastgøres til huset (18). Dette trykændringsmiddel er indrettet til at ændre trykket i manifolden, idet der ved en reduktion af trykket trækkes prøver op i pipetterne, og prøverne drives ud af pipetterne ved en forøgelse af trykket.

5561-87



Opfindelsen angår en prøveudtagningsindretning med flere pipetter omfattende et antal pipettehulrum, der er udformet i en pipetteplade, et hus, som er anbragt oven over og tætnende fastgjort til pipettepladen til dannelse af en manifold, som
5 står i fluidumforbindelse med hver af pipetterne, og et tryk-
ændringsmiddel, som kan forbindes med manifolden med henblik på at tillade skiftevis evakuering af og trykopbygning i manifolden.

Opfindelsen angår endvidere en fremgangsmåde til anvendelse af
10 indretningen ifølge opfindelsen.

Der kendes pipetter med forskellig udformning til at trække afmålte væskeprøver op fra en beholder og overføre dem til en anden beholder. Disse pipetter kræver typisk en tidskrævende omhyggelighed for opnåelse af en nøjagtig afmåling og ved ren-
15 gøring eller sterilisation mellem brug. Afmålingsunøjagtigheder skyldes manglende sikker styring af væskens form og beliggenhed ved pipettens top og spids på fyldningstidspunktet samt variationer i den væskemængde, som bliver tilbage i pipettespiden efter udtømningen. Forsøg på at styre disse unøj-
20 agtigheder har hidtil resulteret i bekostelige fremstillingsmetoder og benyttelsen af yderligere dele til at styre væskeni-
veauet samt benyttelsen af komplicerede apparater til at tilvejebringe en ensartet udlevering.

Fremskridt inden for mikrobiologiske, immunologiske og andre
25 statistiske undersøgelsesmetoder har gjort individuel prøveudtagning upraktisk på grund af den hermed forbundne tids- og omkostningsfaktor. Behovet for udtagning af et stort antal prøver af forurenende væsker har fremkaldt et behov for prøve-
tagningsindretninger med flere pipetter, som er billige og af
30 engangstypen. Der kendes et antal indretninger ved hjælp af hvilke ovennævnte problemer er søgt løst ligesom der også kendes et antal prøvetagningsindretninger med flere pipetter. Nogle af disse indretninger er vist i amerikansk patentskrift nr. 3.261.208, 3.568.735, 4.158.035, 4.461.328 og 4.468.974.

En gennemgang af disse patenter vil vise, at forsøgene på i en operation at tilvejebringe flere nøjagtige prøver medfører krav om forøget præcision, bedre materialer eller flere dele i indretninger, hvilke forhold alle bidrager til en forøgelse af fremstillingsomkostningerne og indretningernes kompleksitet. 5 Hidtil gjorde forsøg på at styre nøjagtighed under brugen har således resulteret i uhensigtsmæssig og tidsrøvende fremgangsmåder og udstyr.

Der er således et behov for en indretning med flere pipetter, 10 som tilvejebringer en hurtig og bekvem overførsel af flere væskeprøver i situationer, som gentages, og hvis opbygning muliggør nøjagtig prøvetagning og lave fremstillingsomkostninger, og som fortrinsvis er af engangstypen.

Til opnåelse af dette formål er prøvetagningsindretningen 15 ifølge opfindelsen ejendommelig ved, at pipettehulrummene er termoformet i en tynd plade, så at de har kapillarspidser og en kant i et øvre område af hvert hulrum, at også huset er termoformet og har et antal afstivningsfordybninger i dets øvre overflade og at huset er fastgjort således til pipettepladen, at der dannes en stiv skalkonstruktion, som holder 20 pipettepladen i et enkelt plan, idet fordybningerne er forbundet med pipettepladen.

Ved en udførelsesform for opfindelsen er identiske pipettehulrum udformet i en tynd (0,2 til 1 mm tyk) plastplade. En anden 25 tynd plastplade er udformet således, at når den forbindes med den første plade, dannes der en manifold, hvorved samme tryk kan tilføres hver af pipettehulrummene.

Med henblik på at opnå konstante begyndelsestilstande er der tilvejebragt en fyldebakke, således at væskeprøveniveauet er 30 det samme ved hver benyttelse. Ved anbringelse i denne fyldebakke trækker hver pipettespids på grund af kapillarvirkning samme væskevolumen ind.

I plastmanifolden er der tilvejebragt en hurtigt virkende koblingsdel, ved hjælp af hvilken der til pipetteringsindretningen fastgøres en lille aktiveringsindretning, som kan fungere som en vakuum eller trykkilde. Når aktiveringsindretningen aktiveres, dvs. når den benyttes til at tilvejebringe et vakuum i manifolden, trækkes der væskes ind i pipettehulrummene, indtil disse er overfyldt til et punkt, hvor hulrumsvæggene er fuldstændigt vædede, og en konveks menisk er dannet på hvert hulrums top. Idet den til dannelse af denne konvekse menisk krævede kraft er stor sammenlignet med uregelmæssigheder, såsom niveauunøjagtigheder mellem pipetterne eller forskelle i plastens overfladeforhold, er de overfyldte væskevolumener tilnærmelsesvis identiske. Når aktiveringsindretningen frigøres ved et forudindstillet stop, dannes der identiske konkave meniske i hvert hulrum, og samme væskevolumen er tilbageholdt heri. Pipettehulrummene kan have form som den øvre halvdel af et timeglas, hvilket reducerer størrelsen af spidserne til små kapillarrør, hvorpå der ikke dannes nogen dråber, når pipetterne trækkes op af væsken i fyldebakken. Hvert pipettehulrum tilbageholder nu samme volumen væskeprøve.

Prøvetagningsindretningen med flere pipetter overføres dernæst til de huller eller brønde, som skal modtage væsken, aktiveringsindretningen udløses, og væskeprøverne drives ud. Pipettespidserne anbringes således, at de befinder sig neden under væskenniveauet i de modtagende huller, og når de trækkes op, fjerner kapillarvirkningen al væsken, bortset fra et lille konstant væskevolumen, fra hver pipettespids.

Da aktiveringsindretningen er fastgjort til pipetteringsindretningen med flere pipetter under brugen og derved sammen med pipetteringsindretningen udgør en enhed, er den samlede indretning transportabel og kan betjenes til hurtig og let at overføre væskeprøver ved enhåndsbetjening. Efter brugen kasseres den forurenede pipetteringsindretning og fyldebakken, medens aktiveringsindretningen bibeholdes for yderligere brug. Opfindelsen forklares nærmere nedenfor under henvisning til

tegningen, hvor

fig. 1 viser set ovenfra pipetter, der er tildannet i en pipetteplade, der udgør en del af den foreliggende opfindelse,

fig. 2 pipettepladen set fra siden,

- 5 fig. 3 set ovenfra et hus, der udgør en del af den foreliggende opfindelse,

fig. 4 huset set fra siden,

fig. 5 et tværsnit af pipettepladen og huset i samlet tilstand,

- 10 fig. 6 set ovenfra en fyldebakke, der udgør en del af den foreliggende opfindelse,

fig. 7 et tværsnit af fyldebakken efter linien 7-7 i fig. 6,

fig. 8 et tværsnit gennem en aktiveringsindretning, som kan anvendes i forbindelse med den foreliggende opfindelse,

- 15 fig. 9 et tværsnit gennem en pipette, som er blevet ført ned i en væske, og hvor kapillarvirkningen er påbegyndt, så pipetten delvis er fyldt,

fig. 10 et tværsnit gennem pipetten, idet denne er blevet fyldt med væske ved benyttelse af aktiveringsindretningen,

- 20 fig. 11 et tværsnit gennem en pipette i dennes fyldte tilstand og efter fjernelse af aktiveringsindretningens vakuum, og

fig. 12 et tværsnit gennem en pipette efter udlevering af det heri værende fluidum.

Tegningens fig. 1 til 12 viser en ny og forbedret prøvetag-

ningsindretning med flere pipetter ifølge opfindelsen (multipel prøvetagningsindretning), og som i sin helhed har henvisningstallet 10.

Den multiple prøvetagningsindretnings 10 pipetter benyttes til
5 samtidigt at rehydratisere og pøde en 96-hullers mikrotiterplade. Pipettepladen 12 har således som vist i fig. 1 og 2 96 pipettehulrum 14, der strækker sig nedad fra en ud i et hermed tildannet plan plade 16. En nøjagtig form benyttes til at termoforme en 0,38 til 0,51 mm tyk polyvinylchlorid (PVC) plade,
10 således at hulrummene 14 bliver identiske. Hver pipettehulrums 14 spids fjernes således, at væske kan trækkes ind i hulrummet.

På tilsvarende måde termoformes et hus 18, der er vist i fig. 3 og 4 i en anden form af en 0,38 til 0,51 mm tyk polyvinylchloridplade. Huset 18, der er udformet konkavt, har en rand-
15 del 20 og et indvendigt dannet trin 22. Ved hver af husets 18 hjørner er der dannet en udluftningspassage 24 og et antal afstivende fordybninger 24 er termoformet i husets øvre overflade 28. Som det bedst fremgår af fig. 3 er en fastgørelsesdel
20 30 til en aktiveringsindretning, og som i det følgende vil blive beskrevet nærmere tildannet ud i et eller på anden måde fastgjort separat til husets 18 øvre overflade 28.

Pipettepladen 12 og huset 18 er fortrinsvis ved højfrekvenssvejsning forbundet med hinanden til dannelse af en stiv enhed
25 32, som vist i fig. 5. Pipettepladen 12 og huset 18 er sammensvejset langs en rundtgående kant, der har henvisningstallet 34. Ved denne svejsning dannes en manifold 36, og hver af de afstivende fordybninger 26 varmsvejses ved bundsektioner 38 heraf til pipettepladen 12, hvilket tydeligt fremgår
30 af tværsnittet i fig. 5. Hvert pipettehulrum 14 kan påføres samme vakuum eller tryk, og ethvert af disse hulrum holdes i fast plan under sådanne trykændringer.

Den tidligere nævnte fastgørelsesdel 30 for en aktiveringsind-

retning kan som det bedst fremgår i fig. 3 og 8 bestå af en 0,76 mm tyk plastskive, som er svejst til eller på anden måde fastgjort til huset 18, fortrinsvis i et forud tildannet hulrum 40. En gennemgående åbning eller passage 42 strækker sig ind i indretningens 10 manifold 36. Skiven 30 tjener som en tætningsflade for en pakning 44 og som holdepunkt for gribe- kroe 46, som er indrettet til at forbinde aktiveringsindretningen 48 med pipetteringsindretningen 32 til dannelse af en bærbar enhed.

10 En fyldebakke 50, der er vist i fig. 6 og 7, er i en form termoformet af en 0,38 til 0,51 mm tyk plastplade. Den ud i et opbyggede bakke 50 har ved de fire hjørner udluftningsåbninger 52. Yderligere er der i bakken 50 tildannet et antal væskeopbevaringsfordybninger 54. Disse fordybninger er udformet med henblik på at indeholde en væske, som skal trækkes ind i pipettehulrummene 14 på en måde, som vil blive beskrevet nedenfor.

Aktiveringsindretningen 48 skal nu beskrives nærmere under henvisning til fig. 8. Heraf fremgår det, at aktiveringsindretningen 48 indbefatter et hus 56, i hvilket de førnævnte gribekroe 46 er drejeligt anbragt. Krogene 46 er forsynet med opadforløbende, manuelt bevægelige greb 58, som er beregnet til hurtigt at fastgøre krogene til og frigøre dem fra fastgørelsesdelen 30 for aktiveringsorganet. Inden i huset 56 er der udformet et trykkammer eller en cylinder 60, hvori der er anbragt et i frem- og tilbagegående retning bevægeligt stempel 62. Stemplet 62 er udstyret med en tætnende pakning 64 til at forhindre en luftstrøm omkring stemplets periferirand. Stemplets 62 øverste del er fastgjort til et manuelt betjeneligt greb 66, som muliggør den opad- eller nedadgående bevægelse af stemplet inden i kammeret 60.

I huset 56 er der desuden monteret en manuel betjenelig fjederpåvirket fyldestillingspal 68, som kan bevæges frem og tilbage. Palen 68 har en udragende endedel 70, som har en

kamflade, der er indrettet til at glide hen over en udragende rand 72 på grebet 66. Grebets 66 udragende rand 72 er udformet således, at et glidende indgreb mellem randene 70 og 72 er mulige under en opadgående bevægelse af grebet 66. Efter randen 72 er blevet bevæget forbi randen 70 bevæger fjederen 74 5 randen 70 ind under randen 72, således at stemplet 62 forbliver i dets øvre stilling.

Aktiveringsindretningen 48 omfatter yderligere endestop 76 og 78. Mere specifikt omfatter endestoppet 76 en gevinddel, som 10 kan bevæges opad eller nedad inden i grebet 66 og er indrettet til at begrænse grebets opadgående bevægelse i forhold til huset 66. I virkeligheden udgør endestoppet 76 et endestop mod overfyldning, idet det kan indstilles til et punkt, hvor pipettehulrummet 14 lige nøjagtigt bliver fyldt op ved en opad- 15 gående bevægelse af stemplet 16. Tilsvarende har endestoppet 78 en gevinddel, som kan indstilles i opadgående og nedadgående retning i forhold til huset 56. Dette stop udgør et endestop for væskeuddrivning, hvorved der kan opnås en nøjagtig ud- levering af væske fra hulrummene ved en nedadgående bevægelse 20 af stemplet 13, indtil grebet 66 ligger an mod endestoppet 78. Endestoppet 78 kan ligge an mod en udragende grebdel 80, mens overfyldningsendestoppet kan ligge an mod en udragende husdel 82.

Under brugen anbringes et afmålt volumen podevæske 84, som 25 vist i fig. 9, 10, 11 og 12, i fyldebakken 50, der er vist i fig. 6 og 7. Pipetteringsindretningen 32 sænkes dernæst ned i fyldebakken 50, og pipettespidserne fyldes til samme niveau ved hjælp af kapillarvirkning, som vist i fig. 9. Aktiveringsindretningen 78, som er tydelig vist i fig. 8, fastgøres der- 30 næst tættnende til pipetteringsindretningen 32 ved hjælp af gribekrogene 46, som hægtes ind over skivens 30 rand. Når stemplet 62 trækkes opad inden i huset 56, dannes der et vakuum i den nedre del af trykkammeret 60. Når stemplet 62 trækkes opad indtil overfyldningsendestoppet 76 ligger an mod den ud- 35 ragende husdel 82, trækkes podevæsken 84 ind i hvert pipette-

hulrum 14, indtil alle disse hulrums vægge og kanter er fuldstændig vædet, og der på toppen af hvert hulrum er dannet en konveks minisk 86, som vist i fig. 10.

- Da det nødvendige vakuum til dannelse af en minisk 86 er relativt stort, tjener hver minisk til at begrænse og udligne det væskevolumen, der holdes i pipettehulrummene 14 i denne overskudstilstand, til trods for små variationer på grund af uplanheder i bakken 50, urenheder eller befugtningen af plastvæggene. Ved manuel frigørelse af stempelgrebet 16, kan stemplet 62 bevæge sig delvis nedad inden i cylinderen 60, indtil den udragende rand 72 kommer i indgreb med randen 70, der udgør en del af fyldestillingspalen 68. Stemplet 62 fastlåses da i denne stilling samtidig med, at den delvise nedadgående bevægelse af stemplet 62 bevirker en i det mindste delvis op-
hævelse af vakuumet inden i manifolden 36. I denne tilstand tilbageholdes lige store og forud fastlagte væskevolumener i alle pipettehulrummene 14, hvilket bedst fremgår af fig. 11. Samtidigt er hver pipettehulrumskant 88 ensartet vædet, og minisken 86 tjener atter til at udligne væskevolumenerne.
- 20 Den samlede enhed omfattende aktiveringsindretningen 48 og pipetteringsindretningen 32 fjernes dernæst fra fyldebakken 50 og overføres til en ikke-vist 96 hullers mikrotiterplade. Husranden 20 og det tilknyttede trin 22, som bedst fremgår af fig. 4, sørger for, at pipettespidserne bliver anbragt i de
25 modtagende huller. Fyldepositionspalen 68 kan derefter manuelt trækkes væk fra huset 56, hvorved randene 70 og 72 kommer ud af indgreb med hinanden, således at stemplet 62 frigøres for en fortsat nedadgående bevægelse i cylinderen 60. Stemplet 62 vender dernæst tilbage til dets oprindelige stilling, og det meste af podevæsken 84 udtømmes fra pipettehulrummene 14. Pipettespidserne 90 har været anbragt således, at de nu befinder sig neden under væskenniveauet 84 i mikrotiterpladens huller. Den samlede enhed fjernes herefter fra mikrotiterpladen, og overfladespændingen trækker væskevolumet i
30 hver spids ned til samme niveau, hvilket fremgår af fig. 12,
- 35

hvorved det sikres, at samme væskenniveau er blevet udleveret til mikrotiterpladens huller. Med hensyn til dette er væskevolumet i hver spids 50 ved begyndelsen og afslutningen af cyklusen den samme, dvs. samme væskemængde tilbageholdes i trinene vist i fig. 9 og 12. Følgelig svarer trykket i pipettehulrummene 14 da til atmosfæretrykket ved afslutningen af cyklussen, og ingen enkelt pipettespids 90 tømmes fuldstændig for væske 84. Den samlede enhed føres herefter tilbage til fyldebakken 50, og aktiveringsindretningen 38 fjernes, og den forurenede pipetteringsindretning 32 og fyldebakken samt den resterende podevæske 84 kasseres.

P a t e n t k r a v .

1. Prøveudtagningsindretning med flere pipetter omfattende et antal pipettehulrum (14), der er udformet i en pipetteplade (12), et hus (18), der er anbragt oven over og tætnende fastgjort til pipettepladen (12) til dannelse af en manifold (36), som står i fluidum forbindelse med hver af pipetterne, og et trykændringsmiddel (48), som kan forbindes med manifolden med henblik på at tillade skiftevis evakuering af og trykopbygning i manifolden, *k e n d e t e g n e t* ved, at pipettehulrummene (14) er termoformet i en tynd plan plade, så at de har kapillarspidser (90) og en kant (88) i et øvre område af hver hulrum, at også huset (18) er termoformet og har et antal afstivningsfordybninger (26) i dets øvre overflade, og at huset (18) er fastgjort således til pipettepladen (12), at der dannes en stiv skalkonstruktion (32), som holder pipettepladen (12) i et enkelt plan, idet fordybningerne (26) er forbundet med pipettepladen (12).
2. Indretning ifølge krav 1, *k e n d e t e g n e t* ved, at hvert pipettehulrum (14) har form som den øvre halvdel af et timeglas.
3. Indretning ifølge krav 1 eller 2, *k e n d e t e g n e t*

ved, at pipettepladen (12) er en termoplastplade med en tykkelse på 0,38 til 0,51 mm før termoformning.

4. Indretning ifølge et af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved, at en film af hydrofob plast omgiver kanten
5 (88) af hver pipettehulrum (14).

5. Indretning ifølge et af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved, at en fastgørelsesindretning (30) er tildannet i manifolden (36), idet trykændringsindretningen (48) er indrettet til at blive fastgjort til fastgørelsesindretningen (30).
10

6. Indretning ifølge et af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved, at den omfatter en fyldebakke (50), hvori et antal pipetter kan anbringes i en væske, som befinder sig i fyldebakken (50).

15 7. Indretning ifølge krav 6, k e n d e t e g n e t ved, at fyldebakken (50) holder pipettepladen (12) i et valgt konstant niveau under fyldningen af pipetterne.

8. Indretning ifølge krav 6 eller 7, k e n d e t e g n e t ved, at et ud i ét tildannet rand (20), der udgør en del af
20 manifolden (36), hindrer at pipetternes spidser (90) kommer i overfladeberøring med fyldebakken (50).

9. Indretning ifølge et eller flere af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved, at trykændringsindretningen (48) omfatter et manuelt i et hus (56) bevægeligt stempel (62),
25 idet en nedadgående bevægelse af stemplet (62) bevirker tryk-opbygning i manifolden (36) og en opadgående bevægelse af stemplet (62) bevirker evakuering af manifolden (36).

10. Indretning ifølge krav 9, k e n d e t e g n e t ved, at trykændringsindretningen omfatter forbindelsesorganer, der er
30 indrettet til at tilvejebringe en fastgørelse af trykændrings-

midlet til manifolden.

11. Indretning ifølge krav 10, k e n d e t e g n e t ved, at forbindelsesorganerne (58) kan betjenes manuelt.

12. Indretning ifølge krav 9, 10 eller 11, k e n d e t e g-
5 n e t ved, at trykændringsindretningen (48) omfatter et ind-
stilleligt anslag (76) til begrænsning af stemplet (62) opad-
gående bevægelse og derved bevirke en ønsket maksimal fyldning
af pipetterne, som reaktion på en opadgående bevægelse af
stemplet (62).

10 13. Indretning ifølge et af kravene 9-12, k e n d e t e g-
n e t ved, at trykændringsindretningen (48) omfatter et ind-
stilleligt anslag (78) til begrænsning af stemplets (62) ned-
adgående bevægelse og derved begrænser længden af væske, som
fjernes fra pipetterne.

15 14. Indretning ifølge et af kravene 9-13, k e n d e t e g-
n e t ved, at den omfatter et gribemiddel (70) til begræns-
ning af den nedadgående bevægelse af stemplet (62) fra dets
øverste stilling indtil gribemidlet bliver frigjort for derved
at lette en forøgelse af trykket i manifolden.

20 15. Fremgangsmåde til anvendelse af en prøvetagningsindretning
ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at den omfatter
trinnene

- føre pipetterne ned i en væske, som befinder sig i en fylde-
bakke mens manifolden står i fluidumforbindelse med at-
25 mosfæren, så at kapillarvirkningen tillader en delvis fyldning
af pipetterne med en ensartet væskemængde,
- reducere trykket i manifolden tilstrækkeligt til at trække
væsken opad til et niveau over pipetternes kanter for derved
at bevirke en fuldstændig befugtning af de indvendige områder
30 af pipetterne, idet væsken holdes i det nævnte niveau ved, at
der dannes konvekse meniske,
- øge lufttrykket i manifolden tilstrækkelig til at tillade,

at meniskene får konkav form, så at pipetterne holdes fuldstændigt fyldt med væske,

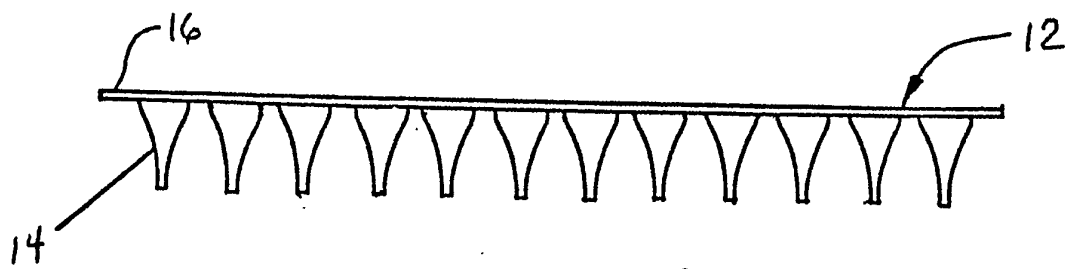
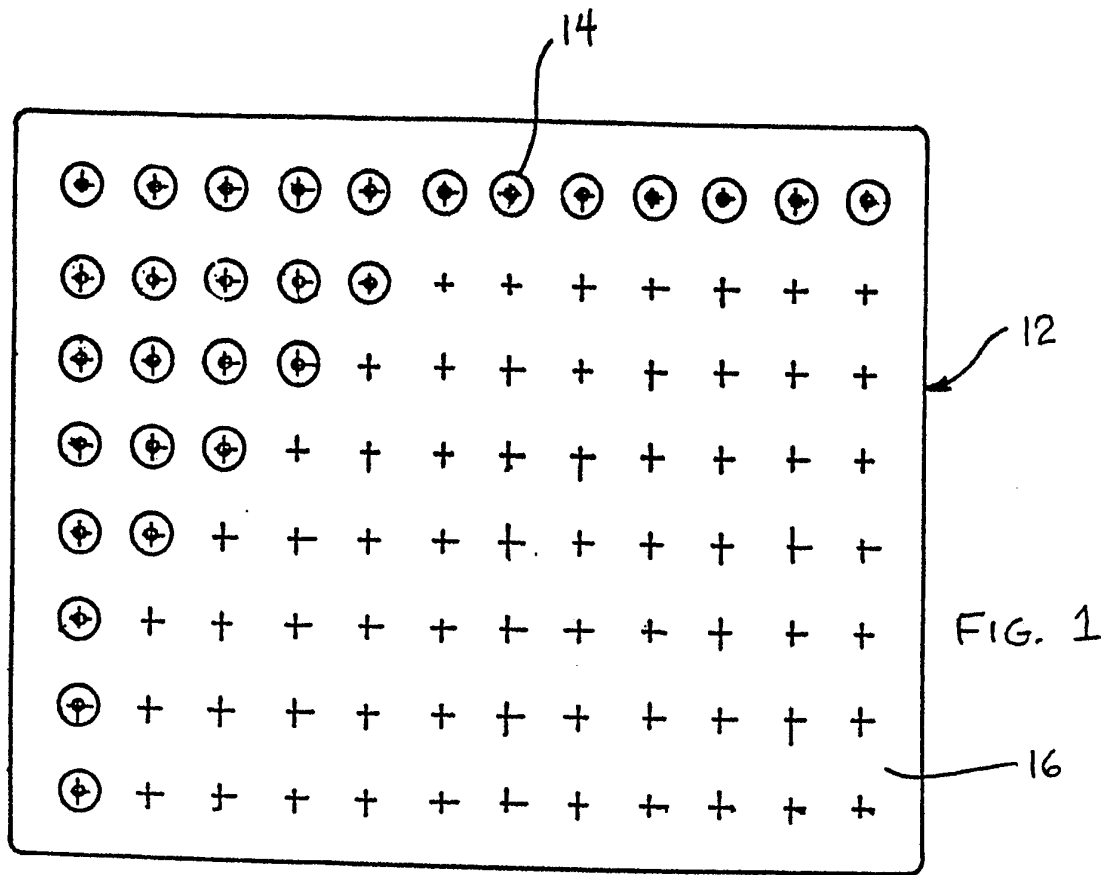
- fjerne pipetterne fra fyldebakken og overføre dem til modtagebrønde, idet pipetterne placeres under væskenniveauet i

5 brøndene,

- yderligere forøge lufttrykket i manifolden tilstrækkelig til at udtømme væsken i pipetterne i modtagebrøndene, og

- fjerne pipetterne fra modtagebrøndene, hvorved overfladespændingen bevirker, at al væske fjernes, bortset fra små

10 ensartede væskemængder ved pipettespidserne, idet de ensartede mængder i hovedsagen er de samme som de mængder, der forefindes umiddelbart efter anbringelsen af pipetterne i fyldebakken.



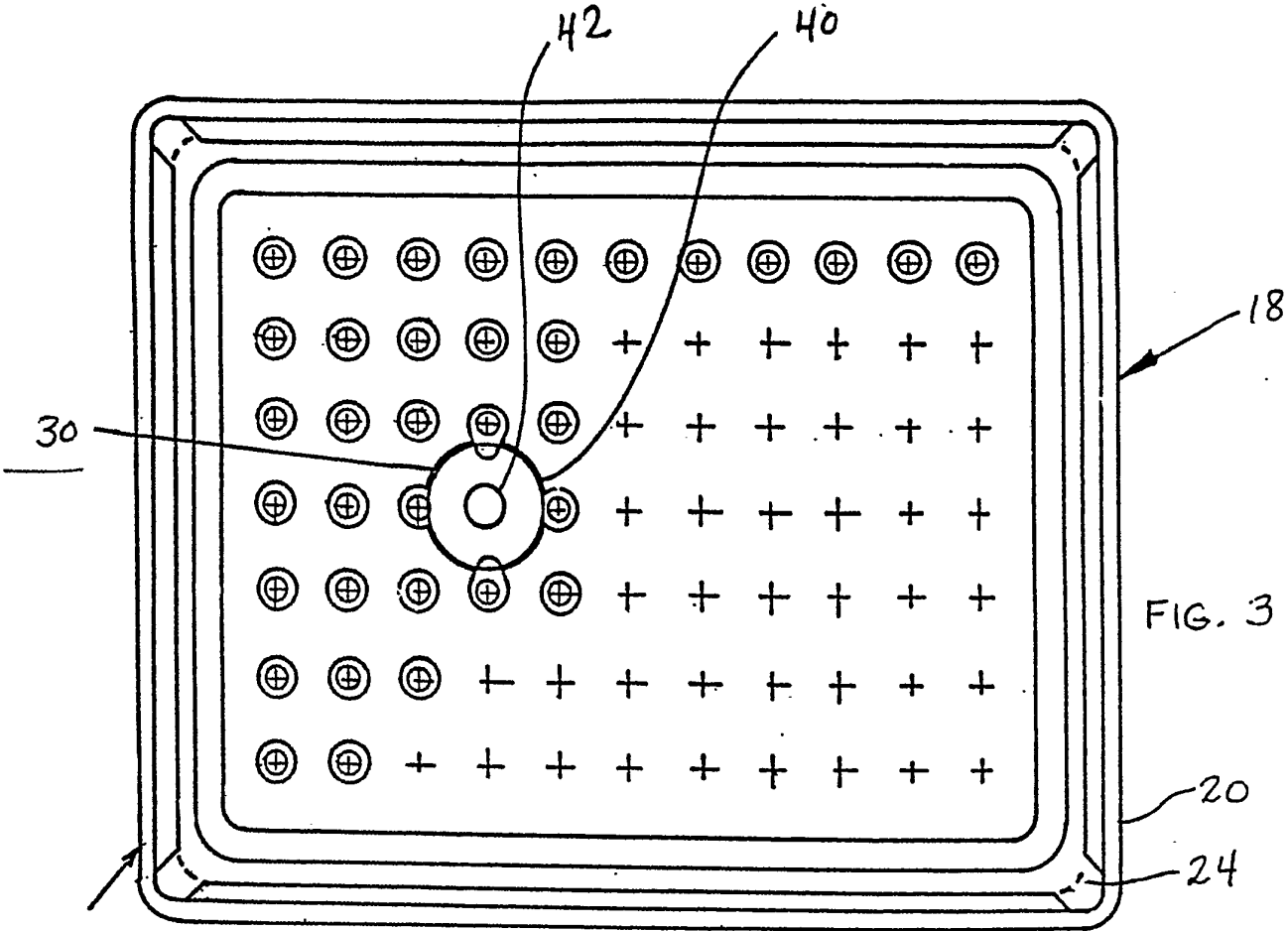


FIG. 3

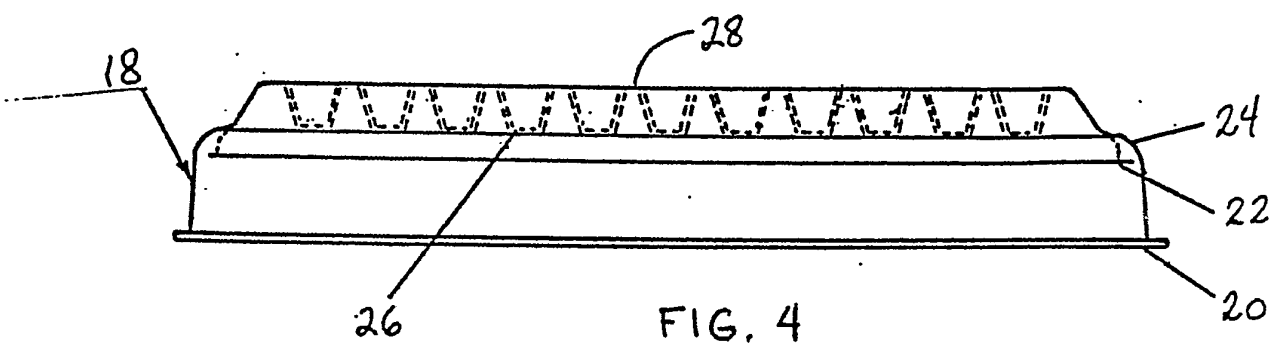
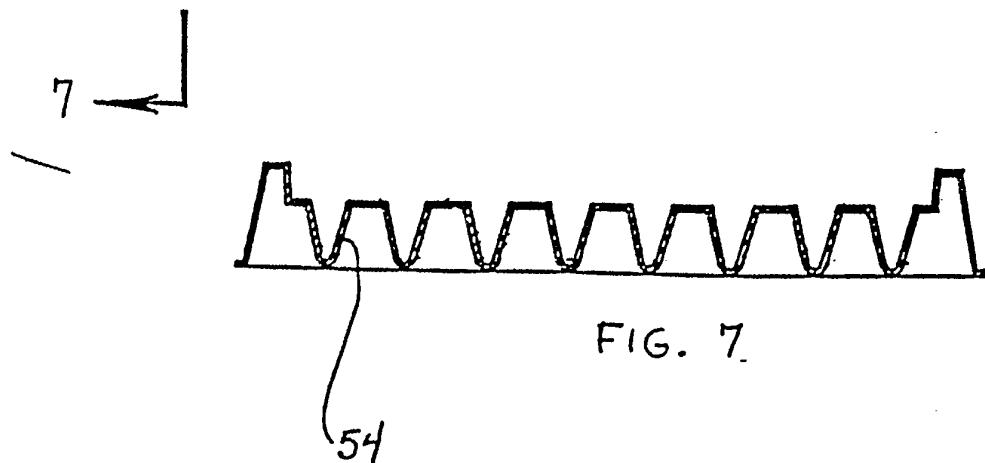
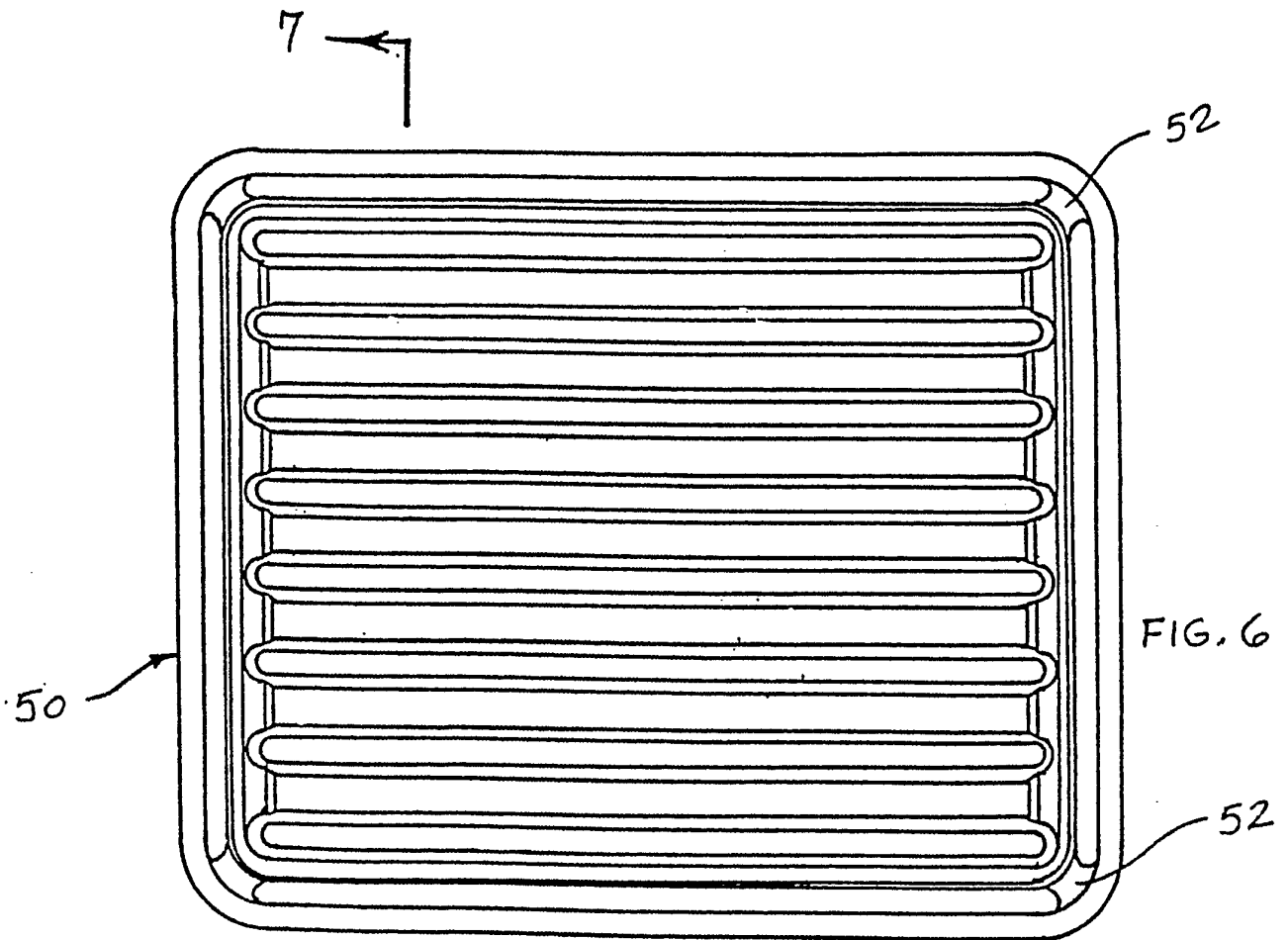
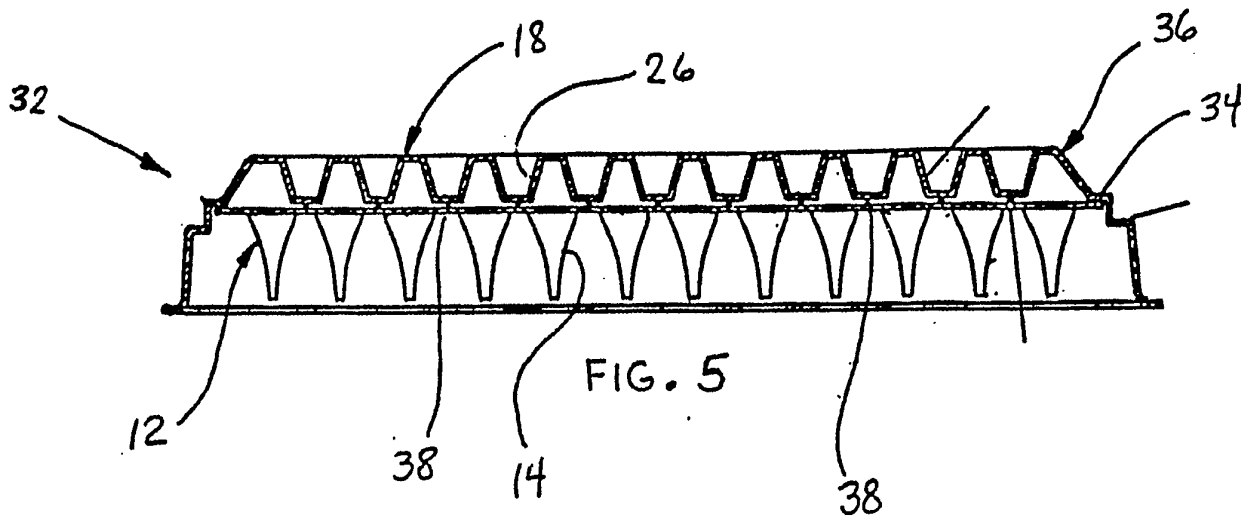
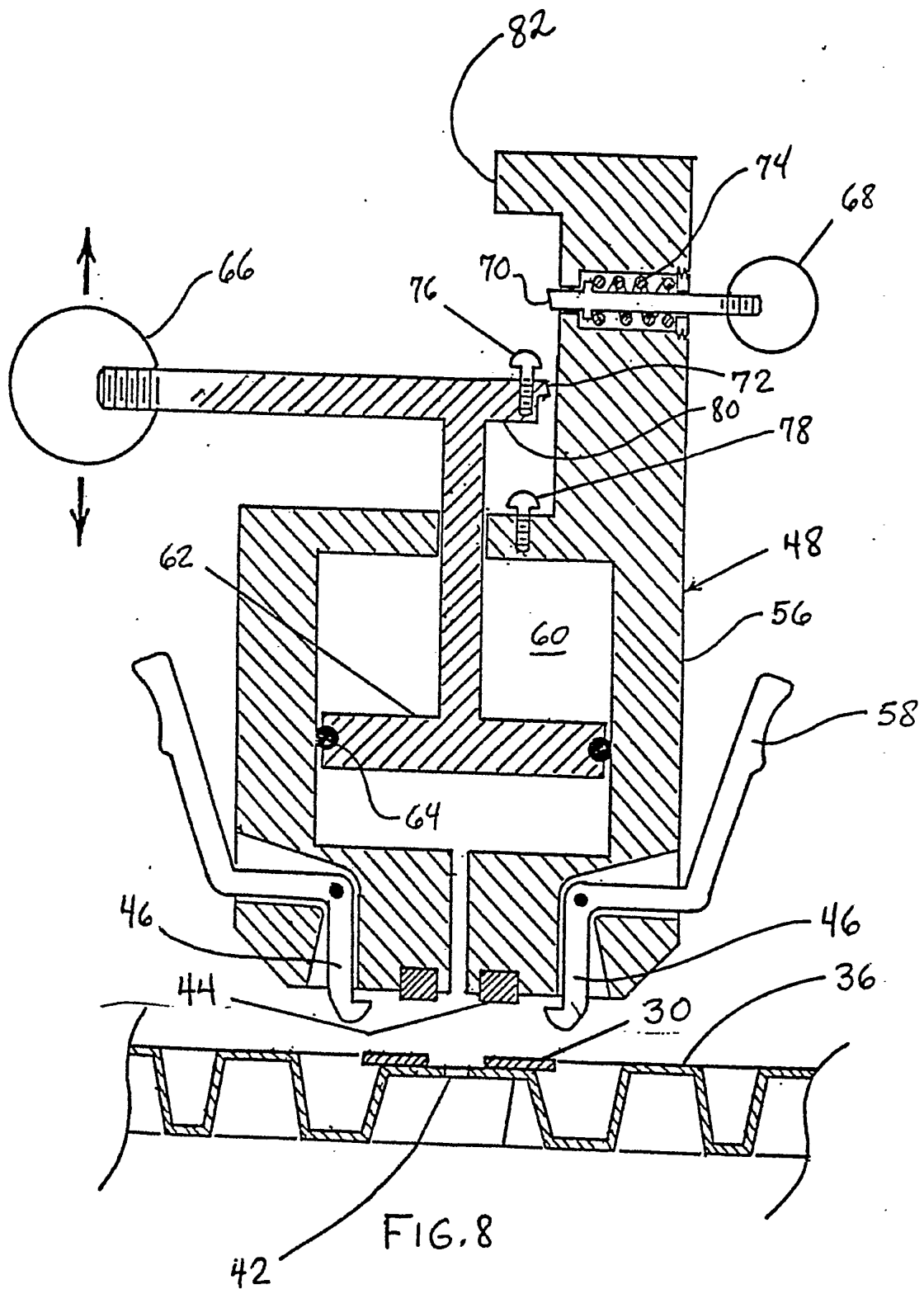


FIG. 4





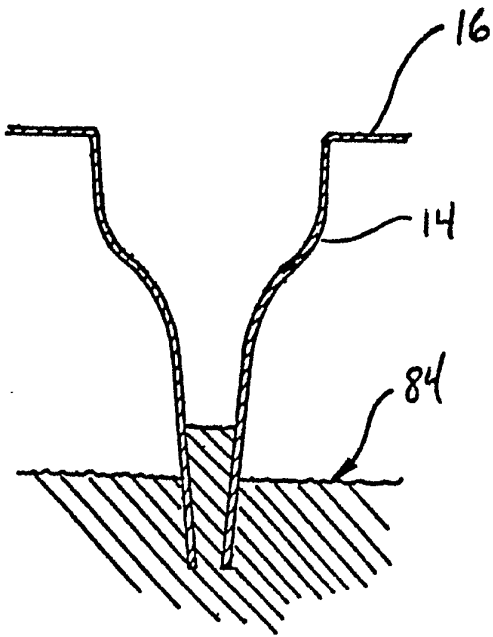


FIG. 9

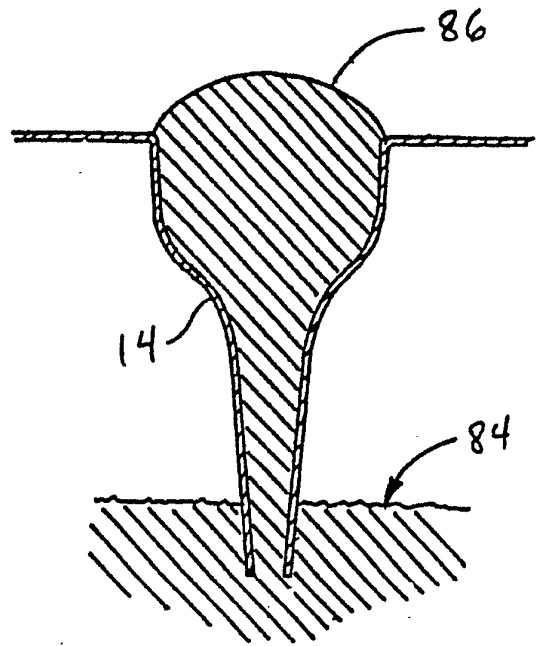


FIG. 10

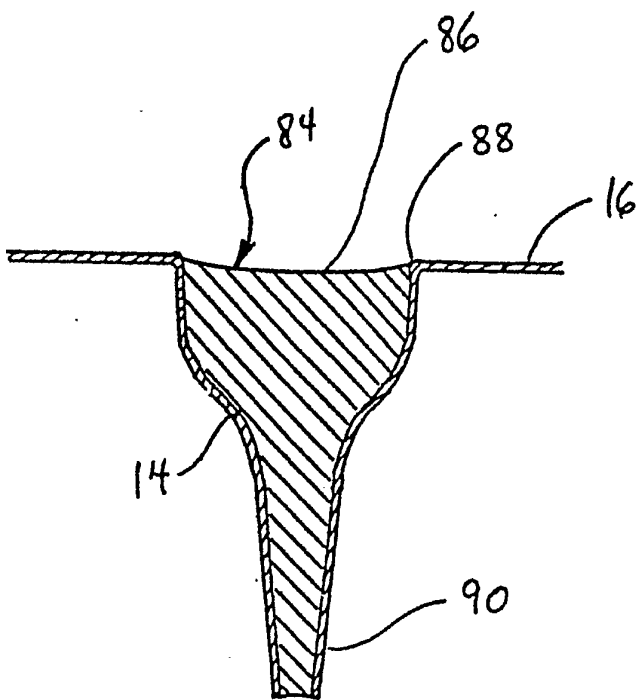


FIG. 11

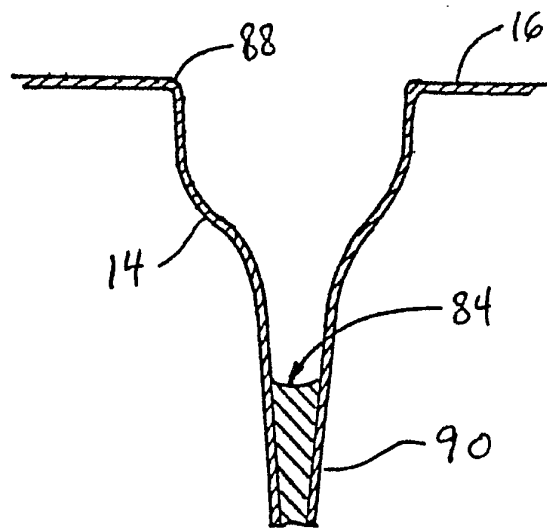


FIG. 12