

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁶

G01N 11/04

G01N 33/53

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94194589.8

[45]授权公告日 1999 年 12 月 1 日

[11]授权公告号 CN 1046998C

[22]申请日 94.9.30 [24]颁证日 99.9.11

[21]申请号 94194589.8

[30]优先权

[32]93.10.28 [33]US[31]08/142,130

[86]国际申请 PCT/US94/10912 94.9.30

[87]国际公布 WO95/12117 英 95.5.4

[85]进入国家阶段日期 96.6.21

[73]专利权人 伊斯塔特公司

地址 美国 新泽西

[72]发明人 G.戴维斯 I.R.劳克斯 M.P.泽林

审查员 杜广元

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所

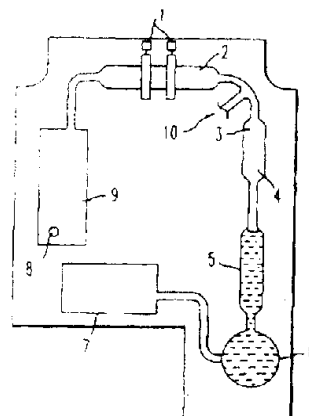
代理人 张 闽

权利要求书 5 页 说明书 24 页 附图页数 8 页

[54]发明名称 测定流体试样粘度变化的方法

[57]摘要

本发明涉及一种用来进行多种测试的装置及测试的方法,这些测试对试样流体粘度的变化敏感。本发明特别涉及一种柱体(10)的应用,它用来进行一种或多种凝结测试或血纤维蛋白溶解的测试。具体地说,(1)表示电导传感器,(2)是试样流动通道,(3)是试剂室,(5)是试样室,(6)是可密封的试样端,膜片(7)施加压力使试样流过流动通道。



ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 一种测量流体试样粘度变化的方法，它包括：

(a) 将一种流体试样注入一个适于插入外部读数设备的小室中，上述小室(i)配有试样移动装置以对上述流体试样施加压力使至少一部分上述流体试样在上述小室中移动，(ii)在上述小室中至少装有一种试剂，在与上述流体试样接触之后可促进上述流体试样的粘度变化，和(iii)在上述小室中至少装有一个传感装置，能检测到上述流体试样的移动；

(b) 对上述流体试样施加上述压力，以便上述试剂与上述流体试样接触，并且至少一部分上述流体试样流过上述传感装置；

(c) 通过上述传感装置检测上述流体试样位移的变化，该变化是上述流体试样粘度变化的量度。

2. 权利要求 1 的方法，其特征在于所述的试样移动装置包括一个泵装置。

3. 权利要求 1 的方法，其特征在于上述压力是反向施加的，以使至少一部分上述流体试样基本上以往复的方式来回流过上述传感装置。

4. 权利要求 1 的方法，其特征在于所述的测量用于选自下面这组的测试：凝血酶原时间（PT）、部分促凝血酶时间（PTT）、激活部分促凝血酶时间（APTT）、凝血酶凝结时间（TCT）、激活凝结时间（ACT）、以及血纤维蛋白原测定。

5. 权利要求 1 的方法，其特征在于上述流体试样位移的所述

变化中继传到外部读数设备上。

6. 权利要求 2 的方法，其特征在于上述流体试样位移的所述变化中继传到配有活塞的外部读数设备上，该活塞接入上述泵装置用来使上述流体试样基本上以往复的形式流过上述传感装置，上述活塞由上述读数设备根据上述传感装置的输出作出的响应来驱动。

7. 权利要求 1 的方法，其特征在于上述流体试样是血液或血浆。

8. 权利要求 1 的方法，其特征在于上述测量用于对上述流体试样粘度变化敏感的免疫测定或基于亲和性的测定。

9. 权利要求 8 的方法，其特征在于上述测定用于测试药物的存在。

10. 权利要求 9 的方法，其特征在于上述药物是一种治疗剂或是滥用的药剂。

11. 权利要求 9 的方法，其特征在于所述药物选自下面这组：茶碱、地高辛、苯妥英、甲状腺素、可卡因和苯异丙胺。

12. 权利要求 8 的方法，其特征在于所述测定用于测试肽、低聚肽或多肽的存在。

13. 权利要求 8 的方法，其特征在于所述测定用于测试核苷酸、低聚核苷酸或多核苷酸的存在。

14. 权利要求 8 的方法，其特征在于所述测定用于测试糖、低聚糖或聚糖的存在。

15. 权利要求 2 的方法，其特征在于所述泵装置包括一个弹性膜片。

16. 权利要求 6 的方法，其特征在于反馈方法将上述传感装置的上述输出与上述活塞的起动相关联。

17. 权利要求 1 的方法，其特征在于上述传感装置能测到流体试样的位移振荡频率、幅度或它们的变化。

18. 权利要求 17 的方法，其特征在于所述频率、幅度或它们的变化在上述传感装置的输出中以时间函数的形式反映出来。

19. 权利要求 1 的方法，其特征在于上述传感装置包括一个电导传感器。

20. 权利要求 19 的方法，其特征在于上述传感器是以平行结构设置的。

21. 权利要求 19 的方法，其特征在于上述传感器是以垂直结构设置的。

22. 权利要求 1 的方法，其特征在于所述的测量用于凝集测试。

23. 权利要求 4 的方法，其特征在于所述的试剂包括一种用于 PT 测试的试剂。

24. 权利要求 4 的方法，其特征在于所述的试剂包括一种用于 PTT 测试的试剂。

25. 权利要求 4 的方法，其特征在于所述的试剂包括一种用于 APTT 测试的试剂。

26. 权利要求 4 的方法，其特征在于所述的试剂包括一种用于 TCT 测试的试剂。

27. 权利要求 4 的方法，其特征在于所述的试剂包括一种用于 ACT 测试的试剂。

28. 权利要求 4 的方法，其特征在于所述的试剂包括一种用于血纤维蛋白原测试的试剂。

29. 权利要求 8 的方法，其特征在于所述的试剂包括一种用于凝集免疫测试的试剂。

30. 权利要求 22 的方法，其特征在于所述的试剂包括一种用于凝集测试的试剂。

31. 一种进行血液血纤维蛋白溶解测试的方法，它包括：

(a) 在适于插入外部读数设备的小室内装入一份血样，所述的小室(i)配有试样移动装置以对上述血样施加压力，使至少一部分上述血样在上述小室中移动，(ii)在上述小室中至少有一种试剂，它在与上述血样接触后可促进上述血样凝结，和(iii)在上述小室中至少有一个传感装置，能检测到上述血样的移动；

(b) 对上述血样施加上述压力，以使上述试剂与上述血样接触，并且至少一部分上述血样流过上述传感装置；

(c) 通过上述传感装置检测上述血样位移的变化，作为上述血样凝结的量度；

(d) 对上述凝结的血样维持上述压力，直至溶解过程使上述凝结血样粘度变低，使得至少一部分上述溶解的血样通过上述传感装置的位移增大。

32. 权利要求 31 的方法，它进一步包括用第二种能促进上述凝结血样的血纤维蛋白溶解的试剂处理上述凝结血样。

33. 权利要求 32 的方法，其特征在于上述第二种试剂从下面这组中选出：组织血纤维蛋白溶酶原激活物（tPA），链激酶或尿激酶。

34. 权利要求 32 的方法，其特征在于对独立的血纤维蛋白溶解测试结果作比较以确定最有效的试剂，其中每种测试采用独立的第二种试剂。

说明书

测定流体试样粘度变化的方法

本发明涉及一种用来进行对试样流体粘度变化敏感的多种测定的装置以及进行这类测定的方法。特别是本发明涉及到一种柱体的使用以进行一个或多个凝结测定或与此相反进行血纤维蛋白溶解测定。本发明出人意料地使用了一套泵装置来使流体试样流动。在一个方案中,试样流动是通过对试样流体可反向、快速和可重复地施加压力以产生一个显著的往复运动而实现的,而这种往复运动又可以用适合的传感器检测到。所揭示的装置十分简单,可以为医疗点诊所的临床诊断所使用,包括在意外事故现场、急救室或集中治疗单位使用。

保持血液在流体状态(术语称为止血)需要在促凝剂和抗凝剂之间有个微妙的平衡。促凝剂通过使受伤血管的血流结块以防止过量失血;而抗凝剂则防止血块在循环系统中形成,否则会堵塞血管导致心肌梗塞或中风。

导致血液凝集的生化过程术语叫阶式凝集。其机理是基于血纤维蛋白原的催化转变,使这种可溶性血浆蛋白转化为不可溶的血纤维蛋白。对此反应起催化作用的酶是凝血酶,它并不会在血液中永远以激活形式循环,而是以凝血酶原即凝血酶的非活性前体的形式存在的。向凝血酶的转化发生在存在钙离子和组织促凝血酶时。该机理称为外在途径,第二种、更为复杂的内在途径由与血小板有关的凝血因子激起,这在本领域中已经为人们所理解了。

破坏血液凝块(术语称为血纤维蛋白溶解)要求血纤维蛋白转变为可溶性产物。这种溶解是由蛋白溶解酶血纤维蛋白溶酶催化的,这种酶以一种非活性形式即血纤维蛋白溶酶原的形式循环。组织血纤维蛋白溶酶原激活物(tPA),细胞溶血酶(例如链激酶)以及在尿液中发现的人体蛋白溶解酶(例如尿激酶)都激活血纤维蛋白溶酶原。这些物质用于血栓溶解治疗中。

对于象血友病这样在12种凝血因子中有一项或多项有缺陷的出血情况的诊断,可以通过大范围的多项凝血测试来完成。此外,已经开发出几种测试来监测血栓溶解治疗的进程。已开发的其它测试可指示前血栓溶解或凝血过快的状态。或是监测心肺旁路手术过程中给病人施用精蛋白的效果。但是,凝血测试的主要值是在监测口服和静脉注射抗凝血疗法中。两个关键的诊断测试是激活部分凝血酶时间(APTT)和凝血酶原时间(PT)。

APTT测试评价凝血的内在途径与一般途径。因此APTT经常用来监测静脉注射肝素抗凝血疗法。特别是它测量了在活化剂钙和磷脂加到有柠檬酸的血样中后血纤维蛋白形成血块的时间。使用肝素具有抑制血块形成的作用。

PT测试评价凝血的外在途径与一般途径,因此它用于监测口腔抗凝血疗法。口服抗凝剂香豆定抑制了凝血酶原的形成。因此,该测试是建立在向血样中加入钙和组织促凝血酶的基础上的。

凝血测试的标准实验室技术典型的是采用一种测浊法(例如,参见美国专利NO. 4,497,774)。为进行分析,要将全血试样收集到有柠檬酸的真空容器中并进行离心分离。在血浆中加入足够过量的钙以中和柠檬酸的作用,然后对血浆进行测定。为进行PT测试,组

组织促凝血酶作为一种干试剂，在使用前恢复其水分。该试剂对热敏感，由仪器保持其温度在 4℃。试样与试剂的等分试样送往一个加热到 37℃ 的比色杯中，根据其光密度的变化进行测量。

作为测浊法的一种替代方法，Beker 等人(参见 *Haemostasis* (1982) 12: 73)介绍了一种发色 PT 试剂(*Thromboquant PT*)。根据凝血酶从修饰肽 *Tos-Gly-Pro-Arg-pNA* 上水解对硝基苯胺来鉴定。通过分光光度法监测。

凝血监测是用作对全血的分析的。例如，描述了一个一次使用的柱体其中干试剂放入分析器中，该分析器在放入一滴血样之前要加热到 37℃。试样通过毛细管抽吸与试剂混合。检测机理是根据通过试样的激光来进行。沿流径移动的血细胞产生一种未凝结血液特有的斑点。当血液凝结时，移动即停止产生一种凝结血液特有的样式。有几项专利揭示了这一技术的有关方面，在下面将进一步说明。

美国专利 NO. 4,731,330 披露了一种全血对照试样，由固定的血红细胞和包括凝血因子在内的血浆固体组成。由于检测是根据血红细胞的运动进行的，因此该系统不能使用标准血浆对照。美国专利 NO. 4,756,884 披露了柱体的组成部分，它是建立在毛细管抽吸的基础上，包括某些抗体和试剂用于血液凝结。美国专利 NO. 4,948,961 披露了与上述仪器一起使用的一种使用光学仿真柱体的组成与方法。美国专利 NO. 4,952,373 披露了一种塑料安全防护结构，它可以防止血液意外地由柱体血液入口端流到仪器的测试区。

美国专利 NO. 4,963,498 披露了一种从毛细管抽吸柱体获取化学信息的方法。美国专利 NO. 5,004,923 披露了上述仪器查询柱体所用的光学特征。美国专利 NO. 5,039,617 披露了一种用于 APTT

的设备，它采用全血，其中试样在沿一条流体路线被毛细管抽吸时与试剂混合。活化试剂硫酸脂或硫代鞘糖脂使得血块形成与血细胞比容无关。EP 0368624 A2 披露了一种可提供干燥但又很容易再变为悬浮状的、在表面上稳定的胶乳颗粒。EP 0395384 A2 披露了一种编码方法，由此可以识别不同类型的柱体。

一种单次使用的柱体也作了介绍，它包括两个毛细管，它们同时从一根手指端抽吸血液。该设计允许重复测量或是根据不同的试剂包层进行两次不同的测量。PCT 申请 WO 89/06803 介绍了上述用来测量血液凝结的设备，它是根据通过毛细管的光通透性的变化来测量的。

另一方面，美国专利 NO. 3,695,842 介绍了一种分析液体向凝胶状或固态转化的方法并用于 PT 和 APTT。该凝血系统使用一个装有所有必须的试剂的真空容器及铁磁部件。一旦血样被抽入真空容器，就将其按倾斜方式放入仪器中。该过程使磁铁部件位于管子底部，与一个磁性笛簧开关非常近。在管子旋转时，重力保证了该部件始终在笛簧开关附近。但是，当血液开始凝结时，其粘度逐渐增至一个点，在该点时部件即开始随血样一起旋转。笛簧开关就被启动，从而判断出凝结时间。

还有一种形式也作了介绍，它是建立在与一种干试剂混合的磁性粒子的使用基础上的，该试剂盛在一个扁平的毛细管腔内。由仪器加上的振荡磁场使得这些粒子在试剂溶于血液中后产生振荡。这种运动通过光学方法来监测。当血液凝结时，粒子变得粘滞，其运动也减弱了。通过观测相反的过程即可作血纤维蛋白溶解测试。（参见 Oberhardt 等人，Clin. Chem. (1992) 37 : 520)。上述以磁性粒

子为基础的方法在美国专利 NO. 5,110,727 中也有说明。

检测血液凝结的另一种方法是以超声为基础,这种超声是由悬浮在血样中的 200 微米玻璃球散发出的。发出波的幅值与相位的变化就用来检测血液凝结(参见, *Machado 等, J. Acoust. Soc. Am.* (1991) 90 : 1749)。

*Shenag 和 Saleem 在 " Effective Hemostasis in Cardiac Surgery" Eds: Ellison, N. 和 Jobes, D. R., Saunder & Co., (1988)*中采用了声探头,将其插入装有试样和试剂的比色杯中。声探头对杯中凝块的形成作出反应,这样就可用来测量凝结时间。

已经介绍过一种自动凝结计时器,这种计时器用于测量在心肺旁路手术过程中的病人所取血样的激活凝结时间(ACT)。试样加到一个柱体上,该柱体上配有一个搅拌装置,血块即在其上形成。搅拌装置的运动由一个感光光学探测器控制(参见 *Keeth 等, Proceedings Am. Acad. Cardiovascular Perfusion*(1988) 9 : 22)。

已经报告过一种根据电导率变化来自动记录血块溶解时间的仪器(参见 *Wilkins 和 Back, Am. J. Clin. Pathol.* (1976) 66 : 124)。在第一步中,链激酶、凝血酶和血纤维蛋白原加到一个管子中。一旦产生凝块则将管子部分倒置,使得链激酶能溶解凝块,溶液流下管子并滴进另一个管子中,这个管子底部有一个电极,上部有另一个电极。当液体到达第二个电极时数字计时器即停止,得到对凝块溶解时间的估测值。

另一种根据断开由单个血纤维蛋白所维持电路的方法来测量凝块溶解时间的方法也作过报告(参见 *Folus 和 Kraimer, J. Clin. Pathol.* (1976, 54 : 361)。

美国专利 NO. 5, 096, 669 披露的内容血液化学测试(例如血液中钾浓度和葡萄糖浓度)的一般形式, 以及用一个囊将试样液体沿单一方向移到一个传感器区。特别指出的是液体试样运动或振荡的速度或方向的变化没有在任何地方披露、教导或建议过。

因此, 就需要一种对液体试样粘度变化敏感的测试装置和方法, 在医疗点特别是在象医疗代办处这样的地方(这里不能立即用上集中测试设备)能采用该装置和方法, 该装置可选用显微组构方法生产, 并且这种装置和方法能适应包括血内气体和被分析物测试在内的多种测试。

现在已经令人惊异地发现, 本发明的装置与方法可以满足上面所列举的和更多的要求。在本发明的一个优选方案中, 介绍了一种用完可扔的、一次性使用的柱体, 它与外部读数装置一起可以提供液体试样粘度变化的趋势。特别是, 可以获得生物流体的诊断数据, 诸如全血试样的凝结和血纤维蛋白溶解特性。

最重要的是, 所述的装置与方法可包括一组测试, 所有这些测试可以对一个血样同时进行, 通常是数十秒的事情。例如, 进行一次常规 PT 测试所需时间大约为 12 秒, 而从高度肝素化病人身上抽取血液的 ACT 测试可能需要 300~500 秒。本发明的装置与方法更适合于采用显微组构方法与设备, 特别是显微组构的电化学传感器, 以便能获取、操作、处理和保存可重复数据以及最佳柱体构造。

这样, 在最一般性的意义上本发明涉及用来测量流体试样粘度变化的柱体, 它包括: (a) 一个能注入流体试样的容器, 配有一个试样移动装置, 用来对流体试样施加压力, 该压力应能使至少部分流体试样在该容器内移动; (b) 在容器内至少有一种试剂, 在与流体试

样接触后能够促进流体试样的粘度变化；(c)在容器内至少有一个传感装置，可以检测流体试样的位移。

在本发明的一个特定方案中，容器配有一个或多个连接装置以使容器可与一个或多个机械、电子或光学设备相连接。例如，柱体可能有机电接口以使其能与一台多功能外部读数设备相接，这些功能包括但不局限于记录、显示、操纵、贮存，或者另外采用能用本发明的柱体进行的测量。

本发明可连接的另一种设备是光学检测装置，该装置可以确定气体/液体界面的位置。还有另外的设备，它包括能将流体试样注入容器中的一套试样保存装置。在优选的方案中，试样保存装置也是一个取样装置，例如可用来抽取一个试样。试样保存/取样装置可连到本发明的柱体上以使流体试样注入容器中。在本发明的另一方案中，试样保存装置简单地构成了容器的主要部分，并可装入流体试样。

在本发明中，柱体装有一个移动流体试样的装置。例如，柱体可以连到一个外部泵装置上，该装置可对流体试样施加压力以使试样在容器内移动。另外，试样移动装置也可以是已经构成柱体主要部分的泵装置。在任何方案下，试样移动装置至少使流体试样的一部分流过传感装置。

在本发明的一个优选方案中，施加于流体试样及其后续移动的压力可以反向，这样至少是流体试样的一部分可以基本上以一种往复形式来回流过传感装置。在流体试样与试剂接触时，流体试样后续的粘度变化可通过观测流体试样振荡频率、幅度或其变化而依次测到。另外的方案是，传感装置能检测流体试样本身电特性的变

化。在本发明的另一实施方案中，传感装置可以检测到气体与液体间的界面位置(例如，空气与流体试样之间或空气和校准物之间的气-液界面)。

在本发明的一个特定方案中，公开了一种装置，用来进行对流体试样粘度变化敏感的测定，该装置包括：(a)至少一个对流过传感器的流体试样移动敏感的传感器；(b)至少一种能够促进流体试样粘度发生变化的试剂；(c)用来保证流体试样不与传感器和试剂接触的试样保存器；以及(d)用来对试样保存器中的流体试样施加压力以使流体试样至少有一部分流过传感器的泵装置。所施加的力或压力优选地是可反向施加的，以使流体试样可基本上以往复方式运动，流体试样与能促进流体试样粘度变化的试剂接触。在本发明的一个特定方案中，提供了一套泵装置，它包括一个弹簧膜片，与试样保存器之间有液体相通。一种优选的膜片可配有一个内部弹簧或内部泡沫橡胶，以促使膜片快速、可重复地进行压缩和释放。

如前所述，本发明还提供了柱体及其使用方法，其中柱体可以与完成多种功能的外部读数设备配合。因此，本发明也涉及到一种装置，其中传感器向外部读数设备提供一个信号以驱动活塞压紧和松开膜片。其中传感器为电导传感器，优选为显微结构的电导传感器，信号为电导输出。在一个方案中，低于第一个预选值的输出信号使得读数设备驱动活塞压紧膜片，而高于第二个预选值的输出信号使读数设备驱动活塞松开膜片。除了提供一个反馈方法以外，外部读数设备也可以提供信号处理能力，对原始数据进行处理以增加从一个给定测定中获取有用信息的数量。另外，膜片的压紧与松开可以在一个恒定的预选速率下进行，而发生粘度变化的流体试样的

反应由传感器观测到。本发明的其它方面包括，可以维持在一个给定温度的柱体，优选为生理温度。

根据本发明可以对各种流体试样进行测定，包括生物流体如全血和血浆，但并不限于生物流体。本发明对于抗凝血样的测试也特别有用，包括(但不限于)肝素化的或加柠檬酸的全血试样。

因此，本发明的一个目的就是要提供进行血液凝血酶原时间测试的装置，它包括：(a)至少一个对流过传感器的血样移动敏感的电导传感器；(b)至少一种含有促凝血酶和钙离子的试剂混合物；(c)一个保证试样不与传感器和试剂接触的试样保存器；(d)可对试样保存器中血样反向施压的泵装置，使至少一部分血样流过传感器，优选方式是基本上为往复运动，试剂与血样接触促使其凝结。

本发明的另一个目的是提供一个对血液进行激活部分促凝血酶时间测试的装置，它包括：(a)至少一个对流过传感器的血样移动敏感的电导传感器；(b)至少一种含有磷脂和钙离子的混合试剂；(c)一个保证血样不与传感器和试剂接触的试样保存器；(d)可对试样保存器中的血样反向施压的泵装置，使至少一部分血样可流过传感器，优选方式是基本上为往复运动，试剂与血样接触并促使其凝结。

本发明的再一个目的涉及对进行血液血纤维蛋白溶解测试的装置的叙述，该装置包括：(a)至少一个对流过传感器的血样移动敏感的传感器；(b)至少一种能促进血样凝结或部分凝结的试剂；(c)一个保证血样不与传感器和试剂接触的试样保存器；(d)可对试样保存器中的血样反向施压的泵装置，该压力使至少一部分血样流过传感器，优选方式是基本上为往复运动，试剂与全血接触以得到凝

结或部分凝结的血液，泵装置还能对已凝结或部分凝结的全血维持反向施加的压力，直到血纤维蛋白溶解过程使得凝结或部分凝结的全血粘度变低，从而使流过传感器的至少一部分溶解血样的位移增大，流过传感器的优选方式是基本上为往复运动。

本发明的柱体还可以包括一种校准物液体，至少其中一部分可以流过传感器以对传感器进行校准。这样考虑校准物流体可以以优选的基本上为往复运动的方式流过传感器，同时校准物流体与血液或流体试样相接，如此血液或流体试样就不必为了使传感器能检测到血液或流体试样的粘度变化而直接与传感器相接触。

本发明还有一个目的是披露一种对流体试样粘度变化敏感的测定方法，它包括：(a)将流体试样放在试样保存器中以保证流体试样不与传感器和试剂相接触，传感器对流过传感器的流体试样的移动敏感，试剂则能促进流体试样的粘度发生变化；(b)对试样保存器中的流体试样施加压力以使至少一部分流体试样流过传感器。优选推力或压力是反向施加的，这样流体试样基本上为往复运动，以便流体试样与促进流体试样粘度变化的试剂相接触；(c)检测流体试样流过传感器的位移以表明流体试样粘度的变化。

本发明还有一个目的是进行血液血纤维蛋白溶解测试的方法，如这里所述。本发明的血纤维蛋白溶解测试方法还包括用第二种能在试样凝结或部分凝结状态时促进试样的血纤维蛋白溶解的试剂来处理试样。这种血纤维蛋白溶解促进剂可包含(但不限于)组织血纤维蛋白溶酶原激活物(tPA)、链激酶和尿激酶。

对一种用于处理某个对象的血纤维蛋白溶解促进剂进行选择的方法也作了详述，该方法包括：(a)对于从对象获取的血样进行血纤

维蛋白溶解测试，该测试包括(i)将试样置于试样保存器中避免试样与传感器和试剂接触，传感器对流过传感器的试样的移动敏感，试剂能促进试样凝结，(ii)对试样保存器中的试样反向施压以使至少一部分试样流过传感器，优选基本上为往复运动的方式，以便试样与促进试样凝结或部分凝结的试剂接触，(iii)在试样接触试剂之前或之后任何时刻用血纤维蛋白溶解促进剂处理试样，(iv)对凝结或部分凝结试样维持反向施加的压力，直至血纤维蛋白溶解过程使凝结或部分凝结的试样粘度变低，使至少一部分溶解试样流过传感器的位移增大，流过的方式优选为基本上是往复运动；

(b)'解释测试结果以确定针对该对象的一种有效的血纤维蛋白溶解促进剂。

在刚才的测试中，在一个柱体内可进行使用一种或多种类型血纤维蛋白溶解促进剂的多种血纤维蛋白溶解测试。优选使用多个导管连到试样保存器中，每个导管保存有不同的促进剂。当然，相同促进剂或相同试剂的重复操作可以在一个具有多个导管的柱体中进行。另外多个“单次”测试的结果可进行比较以确定一种对特定对象有效的或如需要可以是最有效的血纤维蛋白溶解促进剂。

本发明还包括一个易处置的一次性柱体，由多个用以确定试样流体中一种或多种被分析物的存在或浓度的显微组构传感器以及用来确定试样流体粘度变化的显微组构传感器组成。

本发明的其它目的对那些普通技术人员而言是显而易见的，在考虑了下面详述的优选实施方案后尤为如此。

图 1A 是对本发明柱体的特定方案的示意图。具体地说，1 代表垂直结构的电导传感器。试样流动通道标为 2，试剂室用 3 表示。另

外试剂可以在传感器区域1中。空气段4也可在试剂室中。5标示试样保存室,6标示可密封的试样端。对试样施加压力使之流过流动通道的膜片用7标出。废物室标号为9,8表示废物室的一个通风口。

图1B是图1A中柱体的拓扑结构再现。校准物流体可从10流入,在上面的图1A中也这样描述了。

图2A和2B描述了事情发生的顺序,其中(a)标志着膜片被压缩,导致流体试样流过电导传感器(传感器测得高的电导率), (b)标志着膜片松开导致流体试样流回(传感器测得低的电导率), (c)是重复流体试样的移动循环以使试样在传感器上来回振荡。

图3A说明一个典型的垂直传感器输出,这是在有试剂使血样凝结时的输出。图3B说明一个典型的平行电导传感器在有凝结试剂时的输出。

图4A和4B分别显示促凝血剂不存在时垂直传感器和平行传感器有代表性的信号输出。

图5A显示本发明电导传感器的直角或垂直结构。流动通道在本发明的这个特定方案中的右边指出。图5B是作为示范的本发明的平行电导传感器结构。图5C说明了一种传感器结构的方案,其中电极距离在传感器的近端与远端是不同的。

图6描述了本发明的多传感器、多试剂和多流动通道方案的一种结构。

本发明涉及到一种装置,优选为柱体的形式,可用来进行多种对流体试样粘度变化敏感的测试。包括全血凝结、凝集、血纤维蛋白溶解测试和一般的获取凝结或溶解过程信息的测定。其它引起流体

试样粘度变化的测定,包括免疫测定和以亲合力为基础的化学或生物学测定,也可以用柱体和本发明的方法进行。

因此,本发明对于提供有关可能伴有凝结过程(例如血块形成、血块凝缩、或血块溶解)的分立事件的信息以及提供对整个事件的了解是有用的。此外,本发明还可用于根据试样凝块形状区别血小板富集和血小板贫乏的血浆。(参见 *Shenag, S. A. 和 Saleem, A. 在 Effective Hemostasis in Cardiac Surgery, Ellison, N. 和 Jobes, D. R. (Eds.), W. B. Saunders Co. (1988) pp. 183—193.*)。本发明也可提供给为接受心肺旁路手术的病人进行预测开发的医生有用的信息。这些病人的术后流血是一个主要考虑的问题。(参见, *Shenag 和 Saleem, Ibid 和 Keeth, J. 等 Proc. Am. Acad. Cardiovas, Perfusion (1988) 9: 22—25*)。

在本发明的一个特定方案中,提供了一个柱体以进行对流体试样粘度变化敏感的测定。柱体优选地包含一个可以检测流过传感器的流体试样位移的传感器,最好为电导传感器。例如,在本发明中所适用的一种电导传感器描述于美国专利 No. 5,200,051 中,引入此处作参考。现参照附图,图 5A 描述了一种电导传感器的结构,其中传感器电极与流体试样的流动垂直放置。因此,由于液体的电导率与空气不同,传感器的信号输出随着流体与传感器电极的接触或分开而不同。但是应当明白,在大量试样从传感器回流的时候,在传感器表面会形成一层薄液膜。该层薄液膜的阻值比空气低得多。因此,实际的信号输出反映的是总试样与这层薄液膜之间的电导率之差。关于传感器“润湿”现象的详细讨论,读者可参考美国专利 No. 5,112,455 的详细说明,这里引入作为参考。

另外，传感器电极也可以纵向放置，也就是说，平行于流体流动方向，如图 5B 所示。在这个结构中，信号输出随着流体覆盖在电极表面的多（电导率高）或少（低电导率信号输出）而不同。在平行结构中，优选方案是流体在运动时不要都退回到传感器电极以外。图 5C 说明了一个对电导传感器远端进一步修改的方案，特别是传感器电极之间的距离是可变的。例如，在远端的电极间距比近端的电极间距大大地减小了。这种减小使电导传感器的输出信号大大增加了，从而有助于检测出流体试样到达传感器的远端。出于这个讨论的目的，“近端”指的是与流体源或试样保存器较近的一端。

在平行结构中，可以提供更大的路径，流体试样在其中与传感器接触。这样就有可能有更宽的“触发”窗口，它能容许与不同试样的电导率有关的变化性（也就是从一个病人身上不同时刻抽取的血样或不同病人的血样之间的差异）。

从垂直电极结构的输出信号的表达不同，它们按二元形式显著地变化，非常快地达到或降到电导率的极值。

相反，平行结构中的信号输出能够以缓慢得多的渐变形式反映电导率的变化，其中高电导率端的值随着试样在传感器上路径长度的增加而增大。这样试样运动的速度及其位置可以用适当的算法确定。然后该信息就可以与泵的起动关联起来。

根据环境条件不同，一种结构可能会优于另一种。因此，在某种情况下垂直结构的节省空间就很重要，而平行结构在另一种情况下其更大的灵敏度或多功能又更为重要。

除了与试样流体流速有关的电极结构本身外，电极的尺寸和空间也可以根据特定的应用加以改变。例如，与流体最初接触较远的

一端可以改变使得电极之间的距离大大缩短(参见图 5C)。当流体接触到该传感器的远端时,电极的几何形状导致电导率的显著降低,这样就能更准确地确定流体试样到达传感器远端的时间。此外可以考虑更为复杂的多测试柱体设计。例如,图 6 显示了多导管的结构,每个导管都有传感器和不同的试剂,但是只需要一个膜片的振荡。

应当指出,试样流体(结块、凝结或发生粘度变化)部分不必直接接触(也就是直接流过)传感器以得到要检测的试样流体粘度的变化。所有的要求就是试样流体与传感器有流体耦合。这里“流体耦合”是指象血样这样的第一种成分形成一部分邻接的段,其中一些部分与传感器如电导性电极相接触,这样第一种成分的任何物理变化都可以耦合给或作用于与传感器接触的邻接段部分。因此,邻接段的所有部分都会随膜片的压缩和放松而运动。例如,一个邻接段由四部分组成:(i)校准物流体,(ii)第一段气阱,(iii)血样和(iv)第二段气阱,第二段气阱将血样与膜片隔开。这种邻接段将随着施加于膜片上的变化的压力而作整体运动。但是,“流体耦合”另外还意味着整个段振荡的速率由整段中的粘度最大部分或成分控制。在上述段的情况下,粘度最大部分最好是也发生粘度变化的血样。

这样凝块就可以在距传感器电极有一定距离的点上形成,但是只要有一些流体与传感器实际接触上,并且与凝块流体有“流体耦合”,凝块的形成将仍然影响整个段的振荡频率或幅值的变化。在上面所述的例子中,校准物流体可以直接流到传感器的电极上,而凝结血块可以距膜片更近。但是,有关凝块现象的信息可以通过整个段的运动变化接转,运动方式优选为往复流过传感器电极。如上面所述,直接接触于传感器电极上的流体甚至可以通过一段气阱与凝

块流体分开。由于气阱也是能够对所加压力作出反应的流体材料，所以凝结的流体或粘度发生改变的流体分开。由于气阱也是能够对所加压力作出反应的流体材料，所以凝结的流体或粘度发生改变的流体与传感器仍有着“流体耦合”。

在本发明的一个特定方案中，考虑的柱体还包括至少一个将试样保存器连到传感器上的导管。在另一个方案中，柱体还包括至少两个连接试样保存器的导管，其中至少有一个导管与传感器相连。在图6中画出了一种优选的导管结构，在一个或多个导管中有一种或多种能促使流体粘度变化的试剂。

本发明的测定是以传感器检测试样流体振荡频率或幅度的变化的能力为基础的。这样，通过本发明可以适应和进行多种测定，包括(但不限于)流体凝结测定，免疫测定，激活部分促凝血酶时间(APTT)，凝血酶原时间(PT)，以及激活凝结时间(ACT)。

用于上面提及的各种不同测定的试剂是本领域熟知的。例如，用于促进血液凝结的试剂可以含有钙和磷脂或钙和组织促凝血酶。ACT激活物包括高岭土、硅藻土、C盐，细碎的玻璃以及类似的物质；Jacobs等Laboratory Test Handbook, Lexi-comp Inc., Stow OH (1980) pp. 370—371。

此外，可以对试剂进行配制以促进其在流体试样中的溶解。这种配方可以简单地包括给定试剂的水溶液或非水溶液，各种添加剂如盐、蛋白质、糖或糖类以及类似的物质都可选择加入该试剂中。有些配方可能包括含凝胶的成分。而另外的也可以含有乳剂。

在任何情况下，试剂组合物优选为制备于本发明的柱体上，以增强其与试样流体接触时的溶解能力的方式进行。高纯度材料可以

从溶剂中分离，例如，固体试剂可以从溶剂的蒸发中结晶出来。产生的结晶材料可以比非结晶材料在试样流体中更易溶解。另外，试剂组合物可以作为一系列或一组微粒来制成。其它制成试剂层的方法也可以使用，包括美国专利 NO. 5,200,051 中所叙述的方法，在此引入其全文内容作参考。

如上面所述，本发明优选的柱体包括对试样流体反向施压的泵装置。更优选的泵装置包含一个弹性膜片，该膜片与试样保存器相连。为助于保持膜片的弹性并促使膜片的快速、可重复的压缩和释放，膜片可配上内部弹簧或内部活塞。活塞可以由任何适合的弹性耐用材料如天然或合成橡胶以及类似的材料制成。

本发明的柱体优选为能适于插入外部读数设备的，该读数设备可提供附加的控制处理机械和读数元件。这种外部读取设备可以是手持式仪器，如美国专利 NO. 5,096,669 中所述，其全文内容在此引入作参考。因此，本发明的柱体优选为配一个传感器，该传感器对外部读数设备提供信号，该设备再驱动活塞压紧和松开膜片。更特别的是，此传感器是一个电导传感器，信号与传感器的输出有关，低于第一个预选值的输出使读数设备驱动活塞压紧膜片，而高于第二个预选值的输出使读数设备驱动活塞松开膜片。当然，根据特殊应用的需要，第一与第二个预选值可以是一样的，也可以差得很远。优选的反馈机理是这样的，驱动装置在例如一个凝结测试中，当试样凝结得足以使压紧活塞所需的电动势超过某个预选值时，驱动装置自动关闭。当然，在血纤维蛋白溶解测试中，活塞运动持续到检测出凝血或部分凝血试样溶解时为止。而且柱体可以用机械或电子方法标记以便外部读数设备可以区分不同的测试。

在另一个可选方案中，活塞运动可以固定为一个恒定的速率。在这个方案中，所得信号输出的变化可能包括电导输出幅值的减小（例如，在平行传感器结构中）或在试样流体往复运动中某种延迟的发展以使频率的变化可被观察到。

外部读数设备也可以包括用于与柱体的传感器发生电接触的接头（例如，参见美国专利 NO. 4,954,087，在此引入本文作参考）。对控制驱动机构的传感器输出进行处理的方法在本发明中也作了考虑。

本发明还考虑到一种便于测量流体试样粘度变化的柱体，它包括(a) 一个能注入流体试样并配有一个试样移动装置的小室，该装置可以对小室内流体试样施加压力至少使一部分流体试样能够移动；(b) 至少一种在小室中装着的试剂，在与试样流体接触后能够促进流体试样粘度发生变化；以及(c) 在小室内至少有一个区域，其中流体试样和空气的界面位置可以在此界面随流体试样移动时监测到。

特别指出的是，在小室中的这个区域可以有一个透明的窗口，透过它可以用光学检测装置确定界面的位置。这样柱体就可以与一个含有光检测器的检测设备接合或置于其中。光检测器可以放在柱体小室的一面上。另外光学检测装置还可以包括一个光源，可选择将它放在小室中与光检测器相对的面。但是，对柱体小室可加以变化以将一个反射材料如小镜子放进去，它可以沿光源入射光线的主方向将光线反射回去。因此，在特殊的方案中，光检测器可以放在小室中与光源相同的一侧。

如同前面所说明的那样，根据本发明可以对各种流体试样进行

测定。但是最有利的是，生物流体可以是全血、肝素化血液，加柠檬酸的血液或血浆。但是，本发明的柱体也可以暴露于其它流体中，包括一种校准物流体，其中至少一部分可以流过传感器以校准传感器输出。如同上面已述及的那样，当校准物流体与血液或流体试样有流体耦合时，校准物流体可以基本上以往复方式流过传感器，这样血液或流体试样就不必直接与传感器接触了。

根据本发明的另一个方面，对按标准设计的柱体也作了考虑，其中至少是柱体的一个元件可以按模块形式接上或拆下。特别地，该元件优选为试样保存器，这样在试样保存器从柱体上拆下时，可用来收集试样流体，如全血。例如，试样保存器可以配有一个毛细管和储液器，可用来从手指端或真空容器中收集血样。另外，试样保存器可以包括一个真空密封的储液器以从套管中接收血液。然后试样保存器接到柱体上，这样其中的血样可以被小室中的试样移动装置所移动。一旦模块式试样保存器与柱体相连，就可以接上外部读数设备开始测定。

本发明也针对一种对流体试样粘度变化敏感的测定方法，它包括：(a) 将流体试样放在试样保存器中以使流体试样不与传感器和试剂接触，传感器对流过传感器的流体试样的移动敏感而试剂能促进流体试样的粘度变化；(b) 对试样保存器中的流体试样反向施加压力，使至少一部分的流体试样流过传感器，优选的流动方式是基本上为往复运动，这样试剂与流体试样接触并促进其粘度变化；(c) 检测流体试样往复流过传感器的位移以指示流体试样粘度的变化。该测定的大部分步骤(优选试样保存和移动步骤)是在装置上实现的，装置包括试样保存器，传感器，以及对试样或校准物流体反向

施加压力的泵装置。

如上面关于本发明的装置的讨论，本方法与涉及到试样流体粘度变化的很多测试过程兼容，典型的液体如全血。这样本方法可适用于进行测定，包括(但不限于)流体凝结测试、流体凝集测定，免疫测定[例如对小分子如药物的存在进行的免疫测定，是治疗方法还是滥用的，如茶碱、地高克欣、苯妥英、甲状腺素、柯卡因和苯异丙胺；生物分子象肽类、低聚肽、多肽(例如蛋白质或球蛋白 IgA、IgG、IgM)，核苷酸，低聚核苷酸或多核苷酸(例如核苷酸类似物、特殊 DNA 或 RNA 序列，特殊的基因)，以及糖、低聚糖和多糖(例如组织的结构成分或糖蛋白的一部分)]，激活部分促凝血酶时间(APTT)，凝血酶原时间(PT)，部分凝血酶时间(PTT)，凝血酶凝结时间(TCT)或者激活凝结时间(ACT)。

根据本发明的一个特定方案，详述了一种用来进行全血血纤维蛋白溶解测试的方法，它包括：(a)将全血试样放入一个试样保存器中，以使试样不与传感器和试剂接触，传感器对流过传感器的试样的移动敏感，试剂能促进试样凝结；(b)对试样保存器中的试样反向施加压力以使至少一部分试样以优选的基本上为往复运动的方式流过传感器，以便试剂与试样接触并促进试样的凝结或部分凝结；(c)对凝结或部分凝结的试样维持反向施加的压力，直至血纤维蛋白溶解过程使得凝结或部分凝结的试样粘度变低，从而使至少一部分的溶解试样基本上以往复方式流过传感器的位移增大。

在本发明的血纤维蛋白溶解测试中，试样流体可以用第二种试剂进行处理，这种试剂能在试样凝结或部分凝结的情况下促使其血纤维蛋白的溶解。在试样流体与促进其凝结或凝块的试剂接触之前

或之后的任何时刻，试样流体都可以暴露于血纤维蛋白溶解促进剂中，典型的试样流体为全血。可以使用的血纤维蛋白溶解促进剂有很多，包括组织血纤维蛋白溶酶原激活物(tPA)，链激酶，尿激酶等等。

本发明因而也可适于在治疗特定的对象时有用的血纤维蛋白溶解促进剂的选择方法。因为个体对使用一种或多种血纤维蛋白溶解促进剂的治疗会有不同反应，所以做一个测定预测某个特定的个体对一组血纤维蛋白溶解促进剂中的哪一个有最佳反应就非常有用。因此，根据本发明揭示了一种方法，它包括如下步骤：(a)对取自某一对象的全血试样进行血纤维蛋白溶解测试，该测试包括(i)将试样放入试样保存器中以保存试样不与传感器和试剂接触，传感器对流过传感器的试样的位移敏感，试剂能够促进试样的凝结，(ii)对试样保存器中的试样反向施加压力，使至少一部分试样以优选的基本上为往复运动的方式流过传感器，以便试剂接触试样并促使其凝结或部分凝结，(iii)在试样与试剂接触之前或之后任何时刻用血纤维蛋白溶解促进剂处理试样，以及(iv)维持对凝结或部分凝结的试样反向施加压力，直到自然的血纤维蛋白溶解过程使得凝结或部分凝结的试样的粘度变低，从而使至少一部分溶解试样流过传感器的位移增加，流过传感器的方式基本上为往复运动的方式；(b)用一种或多种不同的血纤维蛋白溶解促进剂重复做(a)步骤中的血纤维蛋白溶解测试；(c)比较测试结果确定对象的最有效血纤维蛋白溶解促进剂。

应当说明本装置及方法在测试中或贮存时最好是保持最佳的温度。例如，象PT试剂这样的一些试剂可能对温度是敏感的。这样为

了提高包括对温度敏感的试剂在内的柱体的存放期，该装置优选为在 4℃ 干燥环境中贮存。而且某些试剂配方可能证明是比较好的，诸如将试剂混合在一个稳定、易溶的明胶基质上。在测试过程中，柱体也可以维持在例如生理温度下，优选为 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 。

本发明通过下面的具体实施例进一步予以说明，其详细的说明不应当解释为以任何特定方式限定本发明。

实施例

PT 测试柱体

下面介绍的是采用电导测量传感器适合进行 PT 测试的柱体。

Sigma PT 试剂含有促凝血酶和钙，该试剂溶于蒸馏过的去离子水中，然后通过注射器人工注入流体通道和柱体罩的空气段区域，但不进入试样保存室，如图 1A 所示。在试剂干燥后，柱体罩与萃取柱底座装在一起。图 1B 是图 1A 所示图的布局再现。

接下来，加柠檬酸的全血进入血液保存室中（即与试剂不要接触），然后用人工方法反复压紧膜片使试样前进并在传感器区往复运动，如图 2 所示。首先，如同目测检查所看到的那样，血液在与试剂混合并溶解时流动是很容易的。但是，在第一次接触到试剂之后短暂的时间过去，血液就开始凝结了。对膜片再加大压力也无法使血液流过传感器区，因为全血的粘度已经极大地改变了。类似对几个柱体作了如上测试，所得到的结果与上面的相似。

通过使用电导传感器和与分析仪一起操作柱体，凝结形成可被更有效地测到。传感器采用银电极、不过其它贵金属如金和铂也可使用，银也可用作电极材料。通过电导传感器的输出控制由分析仪（即外部读数设备）的活塞元件对膜片的压紧和松开，从而使血液在

电导传感器间振荡。一旦血液覆盖两个电导电极，测得的较低阻值触发了活塞的回退，松开了膜片。当血液流回或退离电极时，测得的较高阻值触发了活塞向下的运动从而压紧膜片。按照这种方式，血液就在电导传感器之间基本上以往复形式运动。

如前所述，膜片的压紧与松开也可以按照恒定的速率进行。

按上述方式制备的几种柱体用分析仪器作了测试，记录了电导传感器的输出。图 3A(垂直结构)和 3B(平行结构)显示了当存在促凝试剂时的典型输出。图 4A(垂直的)和 4B(平行的)显示了当试样流体未接触到促凝试剂时对照操作的典型输出。

这些实验及其它的针对其它测定方法(如 APTT、ACT、PTT、TCT 和血纤维蛋白溶解)的实验表明了本发明的本质特征，即电导传感器可用来观测血样的运动、停止或者振荡频率、相位的变化或者运动幅度，从而将未凝结(或溶解血液)与凝结血液加以区分。至于“振荡的相位”是指活塞驱动与流体试样在传感器上的结果位置的相位差。而且这些例子还显示了一种信号输出反馈方法，该方法能够在实际形成凝块之前检测到试样流体粘度的细微变化。演示了带有弹性膜片形式泵装置的柱体，它使一份全血试样在电导传感器上进行受控的振荡，并显示所需的无论是促凝的还是促血纤维蛋白溶解的试剂在柱体上建立后都保持了活性。这些试剂依次溶解并在受控状态下与全血混合。

用于血液凝结/血纤维蛋白溶解测试的显微结构一次使用柱体

对从 i-STAT Corporation, Princeton, N. J. 08540 买到的 i-STAT 6+ 柱体作了改动，以包括进一个平行结构的电导测量传感器以及促进全血凝结的试剂。试剂方便地在连接试样保存器和电

导传感器之间的导管中建立。

此外，血纤维蛋白溶解促进剂也可以在这些用于测试血纤维蛋白溶解的柱体所用导管中建立。

使用一个弹性膜片作为柱体的囊部分，可以将一个内部的泡沫橡胶插进膜片中。

对该柱体的另外改动包括多导管、附加电导传感器，不同的凝结和/或血纤维蛋白溶解促进剂。关于传感装置的显微结构，读者可以参考美国专利 NO. 5,200,051，这里引入本文作参考。

上述的特定实施例说明了本发明的工作元件。未特别说明的其它实施方式对本领域的普通技术人员是显而易见的，但理解为属于本发明的范围和实质。上述的特定实施例不能理解为以任何方式限定本发明。本发明仅由下列权利要求所限定。

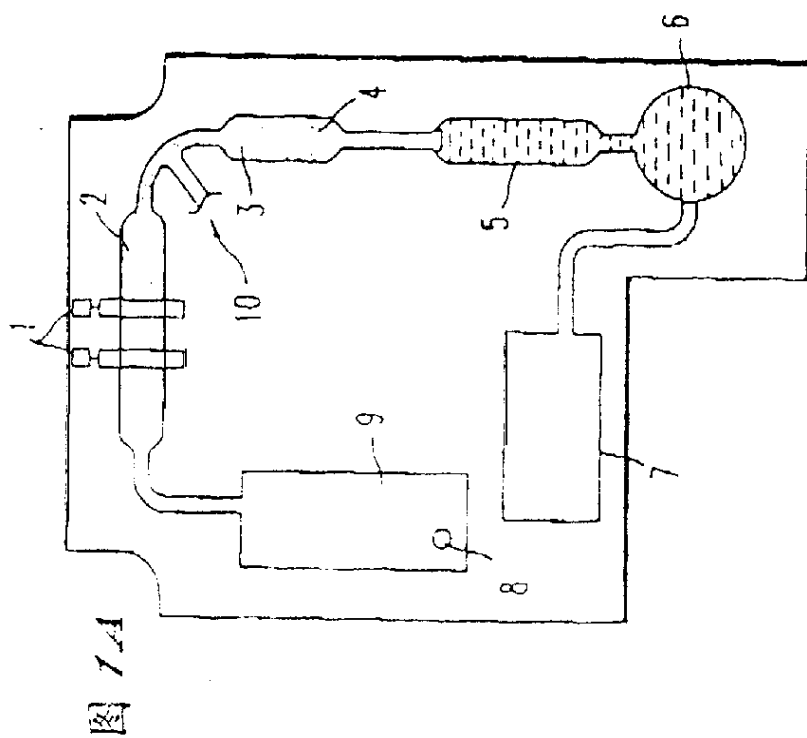


图 1A

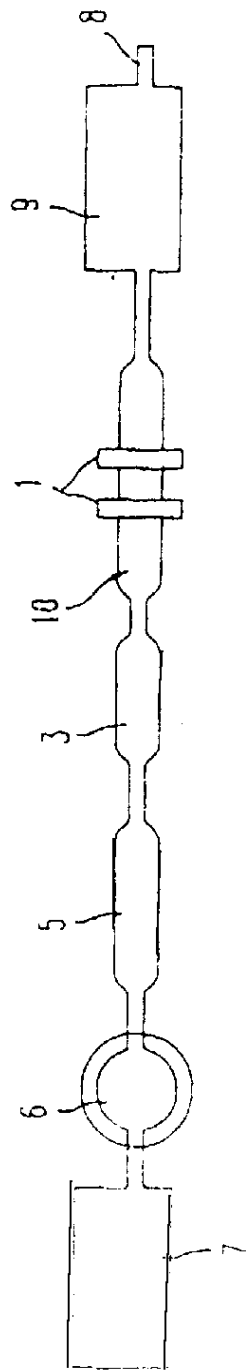


图 1B

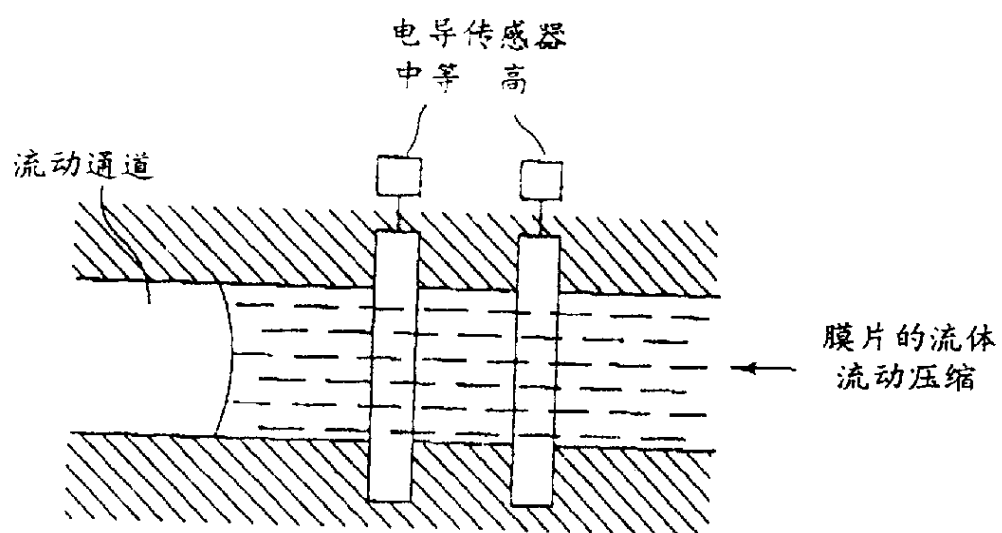


图 2A

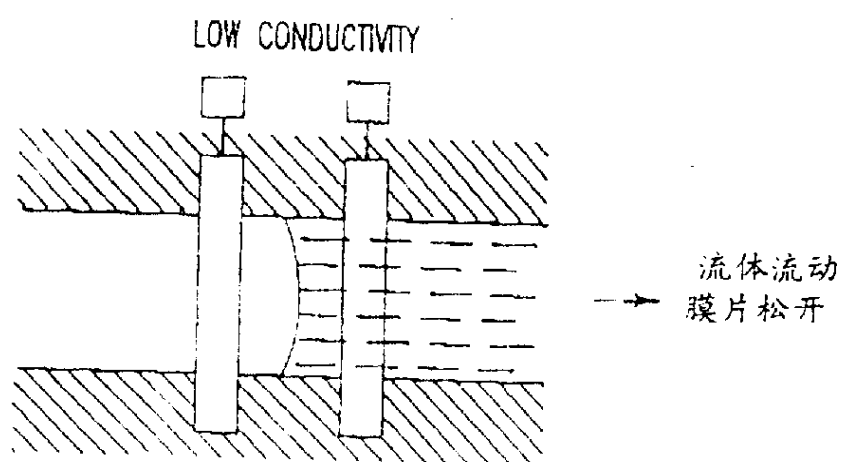


图 2B

用PT试剂检测凝结
垂直传感器

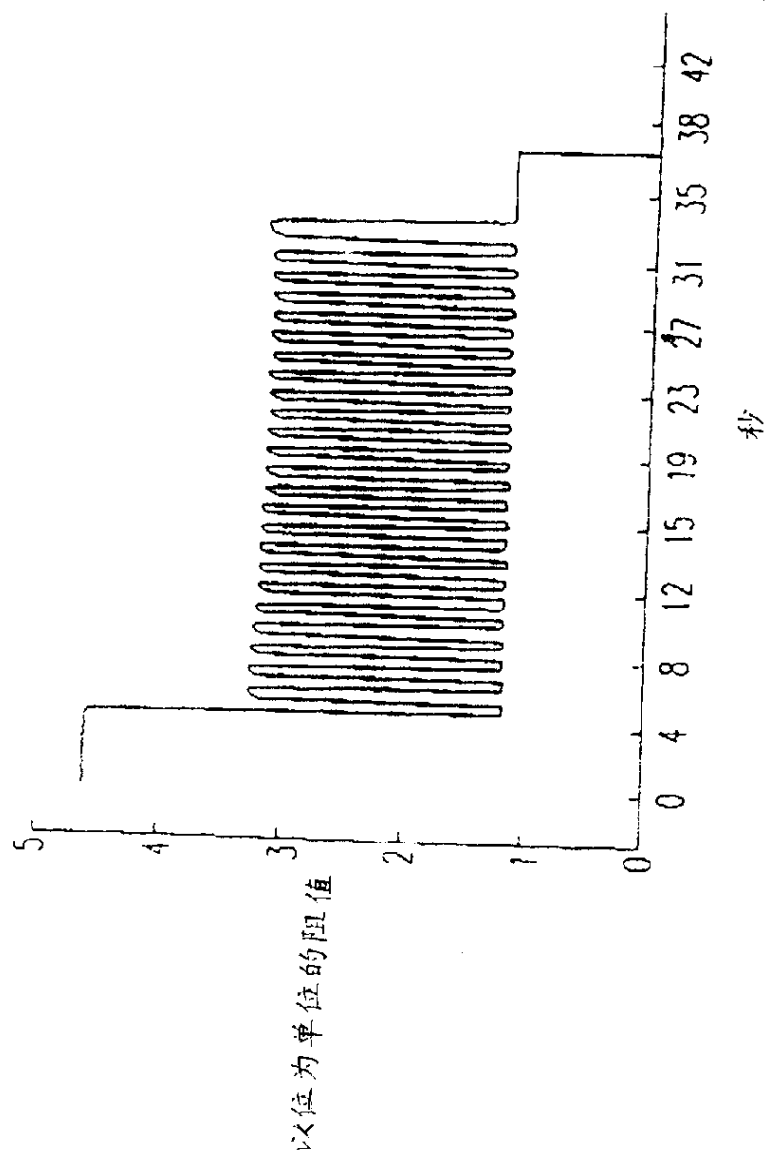


图3A

用 PT 试剂检测凝结
平行传感器

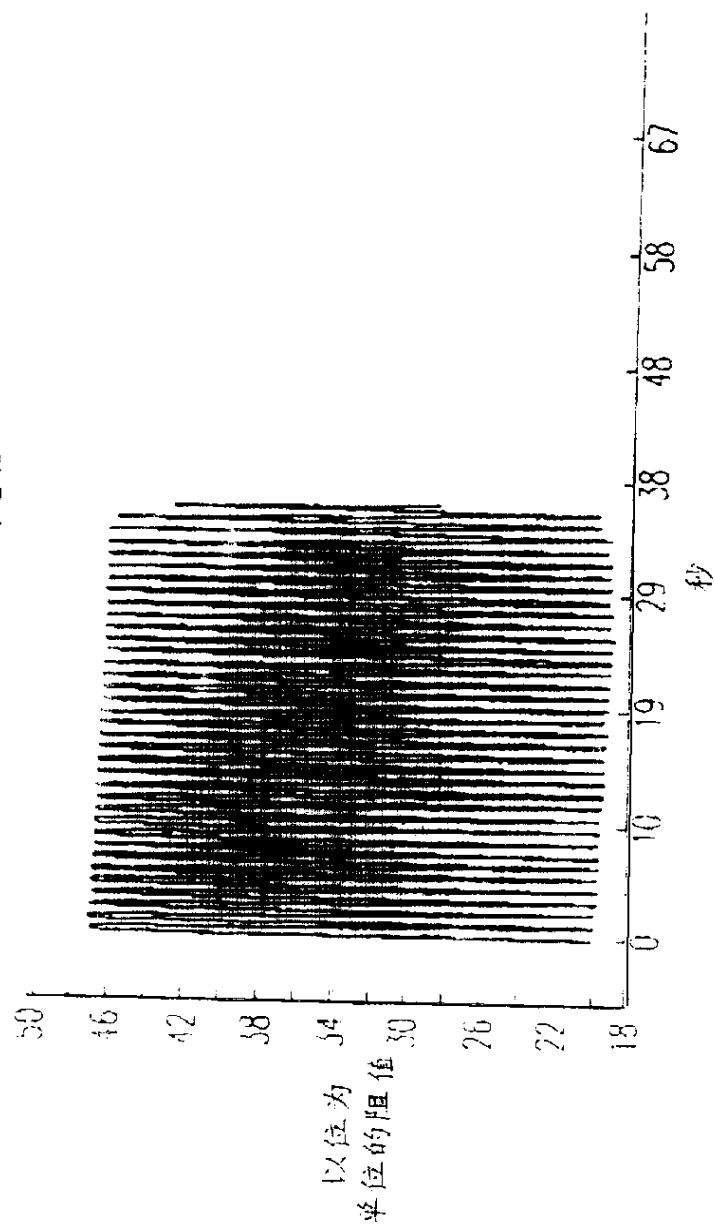
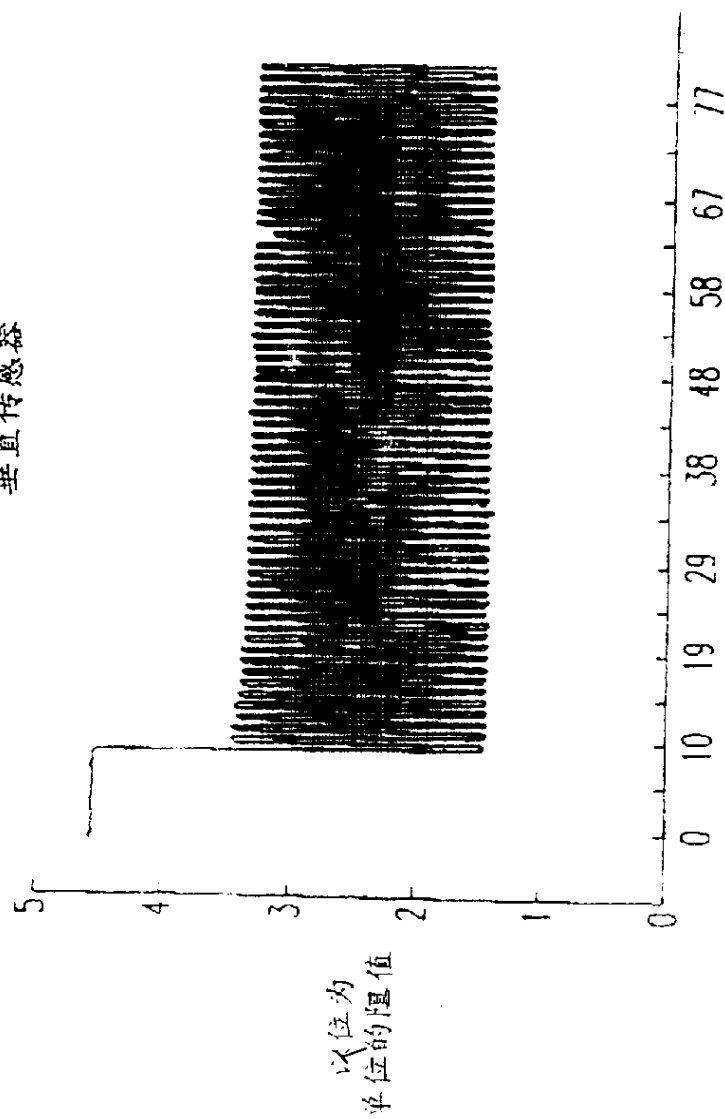


图 3B

无促凝剂时
垂直传感器



秒

图 4A

无促凝剂时
平行传感器

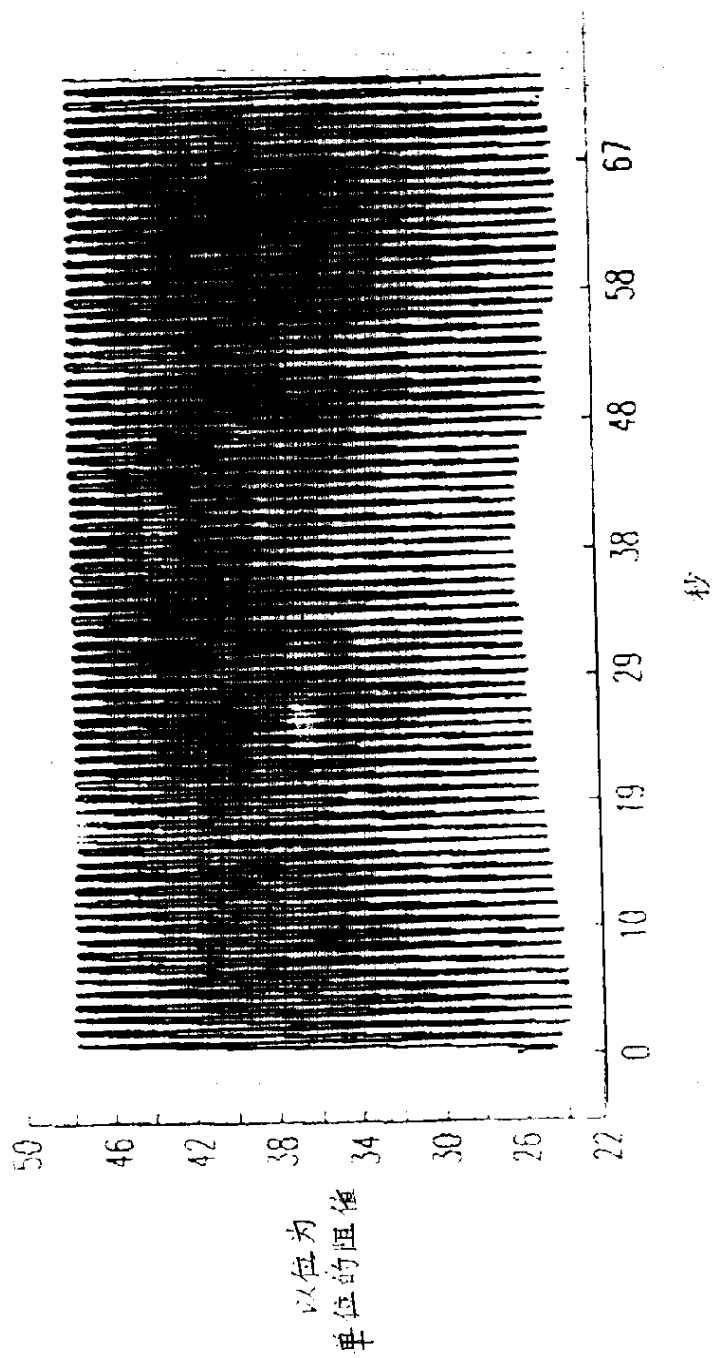


图 113

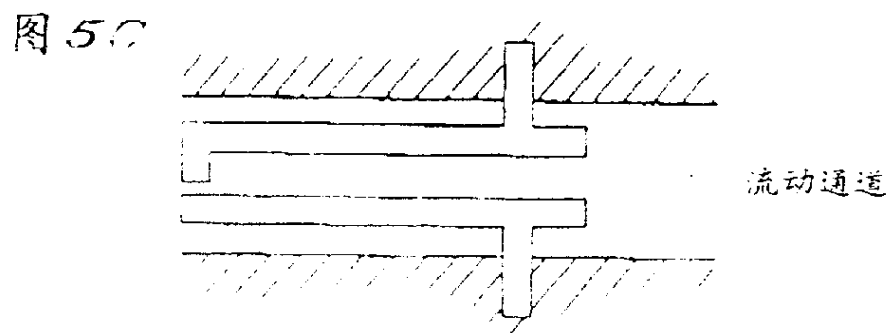
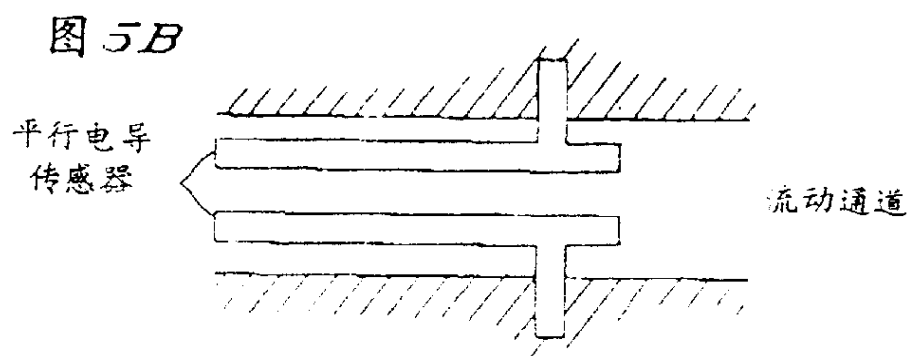
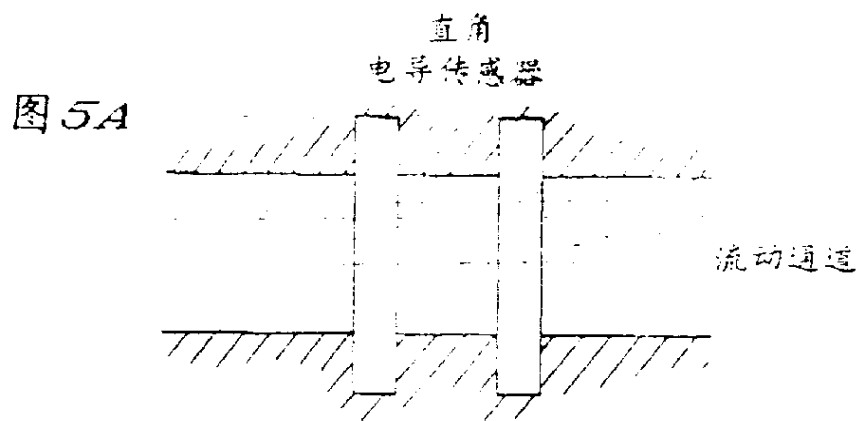


图 6

