



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 36 621 T2** 2007.10.11

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 951 642 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 36 621.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US98/00150**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 904 527.3**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1998/030887**

(86) PCT-Anmeldetag: **08.01.1998**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **16.07.1998**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **27.10.1999**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **13.12.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **11.10.2007**

(51) Int Cl.⁸: **G01N 21/07** (2006.01)

G01N 21/47 (2006.01)

B04B 5/04 (2006.01)

B04B 11/04 (2006.01)

B04B 13/00 (2006.01)

A61M 1/36 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

B01D 21/26 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

34060 **08.01.1997** **US**

49014 **09.06.1997** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, IE, IT, LI, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Bristol-Myers Squibb Co., Skillman, N.J., US

(72) Erfinder:

HOLM, Niels, Erik, 3460 Birkerød, DK;

JORGENSEN, Glenn, A., 3450 Allerød, DK

(74) Vertreter:

Vossius & Partner, 81675 München

(54) Bezeichnung: **VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON AUS BLUT ODER PLASMA BESTEHENDEN LÖSUNGEN BEKANNTER KONZENTRATION**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und Verfahren zum Separieren von Komponenten, z.B. Fibrinmonomer, aus Blut oder Plasma. Die Erfindung betrifft außerdem solche Vorrichtungen und Verfahren, in welchen die Konzentration einer resultierenden Lösung dieser Komponente unter Verwendung von Sensoren, z.B. optischen Sensoren, bestimmt oder gesteuert werden kann.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Die WO 96/16714 offenbart einen Behälter zum Separieren einer Blut- oder Plasmakomponente, z.B. Fibrinmonomer, aus Blut oder Plasma durch eine Zentrifugation um eine vertikale Achse. Dieser Behälter weist eine erste ringförmige Kammer auf, die von einer äußeren zylindrischen Wand und einer inneren zylindrischen begrenzt ist, wobei sich beide Wände coaxial um eine gemeinsame Achse erstrecken, und weist eine obere Wand und eine untere Wand auf, wobei die untere Wand von einem in der ersten Kammer verschiebbaren Kolben gebildet wird. Der Behälter weist außerdem eine zweite Kammer auf, die unterhalb der ersten Kammer untergebracht ist und über ein erstes Leitungsrohr mit der ersten Kammer in Verbindung steht. Die zweite Kammer ist durch die äußere zylindrische Wand, die untere Wand der ersten Kammer und durch eine zweite untere Wand begrenzt. Diese zweite Kammer dient als Reaktionskammer zur Aufnahme von Plasma und zur Behandlung des Plasmas, um die gewünschte Komponente zu gewinnen. Beispielsweise wandelt eine Behandlung von Plasmafibrinogen mit Thrombin oder einem thrombinähnlichen Enzym das Fibrinogen in Fibrinmonomer um, das spontan zu einem nichtvernetzten Fibrinpolymer polymerisiert. Wird für die oben beschriebene Reaktion dieser Behälter in einer Zentrifuge angeordnet, so ist ermöglicht, daß während der Zentrifugation das nichtvernetzte Fibrinpolymer aus dem Plasma separiert wird und an einer äußeren Wand der Reaktionskammer abgelagert wird. Wenn anschließend der Kolben betätigt wird, wird das restliche Plasma aus der Reaktionskammer entfernt. Danach wird ein Lösungsmittel hinzugefügt, um das so abgelagerte nichtvernetzte Fibrinpolymer aufzulösen und die gewünschte Fibrinmonomer-Lösung herzustellen. Wie detailliert in der EP 592242 beschrieben ist, ist diese Fibrinmonomer-Lösung zum Beispiel in Fibrinabdichtungsverfahren sehr nützlich. Es ist erwünscht, Vorrichtungen wie die in der US 5 603 845, WO 96/16713, WO 96/16714 und WO 96/16715 beschriebenen zu verwenden, um Blutprodukte wie beispielsweise Fibrinabdichtungskomponenten unmittelbar zum Zeitpunkt des chirurgischen Eingriffs herzustellen, so daß autologes Blut verwendet werden kann. Es kann auch aus Sicht eines Chirurgen erwünscht sein, Abdichtungsprodukte zu verwenden, die von einem Arbeitsgang zum anderen verhältnismäßig einheitlich sind. Dies ist jedoch für frisch hergestellte Produkte fast unmöglich, da in menschlichen Patientenpopulationen eine Fibrinogenkonzentration im menschlichen Blut um $\pm 300\%$ variieren kann und frisch hergestellte Abdichtungskomponenten aus individuellen Quellen auch variieren werden. Die meisten Menschen haben Fibrinogenspiegel zwischen 2 und 6 mg/ml Plasma und einige Menschen haben so wenig wie 1 mg/ml und einige haben so viel wie 10 mg/ml (Fibrinogenplasma).

Kurze Beschreibung der Erfindung

[0003] Die Aufgabe der Erfindung ist, eine Vorrichtung bereitzustellen, die als Antwort auf die in der Reaktionskammer vorhandene Menge einer polymerisierten Form einer Komponente eine Steuerung der Zufuhr von Lösungsmittel erlaubt.

[0004] Zur Erfüllung der obigen Aufgabe wird eine Vorrichtung bereitgestellt, die gemäß der Erfindung eine Meßvorrichtung zum Messen der Menge der Ablagerung der polymerisierten Komponente an der äußeren Wand aufweist, sowie eine Steuereinheit zur Steuerung der Zugabe eines Lösungsmittels als Antwort auf diese Menge der Komponente aufweist.

[0005] Die Meßvorrichtung kann gemäß der Erfindung vorteilhaft angepaßt sein, um die Menge der polymerisierten Form der gewünschten Blut- oder Plasmakomponente zumindest unmittelbar vor und während der Zugabe des Lösungsmittels kontinuierlich zu messen.

[0006] Gemäß einer speziellen Ausführungsform kann die Meßvorrichtung gemäß der Erfindung eine optische Vorrichtung sein und diese optische Vorrichtung kann gemäß der Erfindung ein Photometer sein.

Kurze Beschreibung der Zeichnung

[0007] Die Erfindung ist nachstehend detaillierter mit Bezug auf die beiliegende Zeichnung beschrieben.

[0008] [Fig. 1](#) ist eine axiale Schnittansicht eines Behälters zum Separieren von Fibrinmonomer aus Blutplasma;

[0009] [Fig. 2](#) ist eine schematische Ansicht einer erfindungsgemäßen Vorrichtung während der Handhabung eines Behälters des in [Fig. 1](#) gezeigten Typs;

[0010] [Fig. 2a](#) ist eine zweite schematische Ansicht einer Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung; und

[0011] [Fig. 3](#) stellt einen Graph dar, der Messungen eines Photometers, aufgetragen gegen die Zeit, zeigt.

Beschreibung einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung

[0012] Die vorliegende Erfindung stellt Vorrichtungen und Verfahren zum Herstellen von Lösungen einer Blut- oder Plasmakomponente in bekannten oder gesteuerten Konzentrationen bereit. Dies stellt die einzigartige Fähigkeit dar, solche Lösungen in einer automatisierten Zentrifugeneinheit in weniger als 30 Minuten herzustellen, so daß frisch hergestellte und vorzugsweise autologe Komponenten verwendet werden können. Der mögliche Nachteil einer Verwendung von frisch hergestellten Komponenten oder Lösungen, d.h. die Tatsache, daß Komponentenspiegel von Patient zu Patient variieren können, wird in der vorliegenden Erfindung überwunden. Es kann nicht nur die Konzentration einer Komponentenlösung, z.B. einer Fibrinmonomer-Lösung, bestimmt werden, sondern es kann auch als Antwort auf diese Bestimmung die Menge eines zur Herstellung der Lösung verwendeten Lösungsmittels oder Puffers gesteuert werden, so daß eine beliebige gewünschte Konzentration hergestellt werden kann.

[0013] Im wesentlichen beinhalten das Verfahren und die Vorrichtung ein Einführen von Blut oder Plasma in einen Behälter, der eine lichtdurchlässige Wand hat, und eine Bereitstellung einer Reaktion, die eine polymerisierte Form der Komponente ergibt, die an der Wand abgelagert wird. Eine optische Messung der Differenz zwischen dem Lichtdurchlaß durch die Wand allein und dem Lichtdurchlaß durch die Wand mit dem Polymer daran kann mit der Gesamtmenge der Komponente aus der Blut- oder Plasmaprobe in Beziehung gebracht werden. Auf diese Weise verwendet, sind die vorliegenden Vorrichtungen und Verfahren nützlich, um die Konzentration der Komponente in dem Blut oder Plasma zu bestimmen. Ferner ist dadurch, daß man die Menge eines Lösungsmittels oder Puffers kennt, die zu verwenden ist, um die polymerisierte Komponente zu solubilisieren, um die gewünschte Komponentenlösung zu ergeben, die Konzentration der resultierenden Lösung sofort verfügbar. Wenn die optische Bestimmung der Konzentration der Komponente im Blut oder Plasma (oder die Bestimmung der Menge der polymerisierten Komponente) durchgeführt worden ist, können ferner diese Daten verwendet werden, um die zum Solubilisieren des Polymers zu verwendende Menge des Puffers oder Lösungsmittels zu steuern, um Lösungen in gewünschten Konzentrationen herzustellen. Wenn ferner der Puffer oder das Lösungsmittel außerdem so verwendet wird, daß die resultierenden Lösungen einen speziellen pH-Wert oder pH-Wert-Bereich haben, können Grenzen der minimalen und maximalen Menge des verwendeten Puffers oder Lösungsmittels angewendet werden. Wenn zum Beispiel eine Plasmafraktion reagiert, um ein Fibrinpolymer zu bilden, und ein pH-4-Acetatpuffer verwendet wird, um das Polymer zu solubilisieren, um eine gewünschte Fibrinmonomer-Lösung herzustellen, können minimale und maximale Puffermengen in den Prozeß und die Vorrichtung einprogrammiert werden, um den resultierenden pH innerhalb eines gewünschten Bereichs, z.B. 4,0–4,5, zu halten. Dies beschränkt natürlich etwas die Fähigkeit, aus Blutquellen, die um $\pm 300\%$ variierende Fibrinogenspiegel haben, wie beispielsweise in der menschlichen Population, Lösungen einer konstanten Konzentration herzustellen. Selbst wenn man diese Beschränkung berücksichtigt, können die vorliegenden Verfahren Fibrinmonomer-Lösungen von ungefähr 20 mg/ml $\pm 25\%$ unter Aufrechterhaltung des pH-Werts zwischen 4,0–4,5 bereitstellen. Dies bedeutet eine beachtliche 10fache Erhöhung der Reproduzierbarkeit einer frisch hergestellten oder autologen Fibrinmonomer-Lösung. Es ist auch wichtig, zu erwähnen, daß die vorliegenden optischen Meßvorrichtungen und -verfahren eher verwendet werden, um Mengen/Konzentrationen von Komponenten in einem Behälter zu messen, der mit hohen Drehzahlen, z.B. bis zu 9000–1000 U/min, rotiert, als daß eine optische Messung in einer feststehenden Position vorgenommen wird. Es war unerwartet, daß sich solche genauen und reproduzierbaren Daten ergeben würden. In der Tat wird vermutlich deshalb eine genauere Messung erzielt, weil der sich schnell bewegendende Behälter einen besseren Durchschnitt des vorhandenen Materials bereitstellt. In dieser Anmeldung ist die vorliegende Erfindung durchwegs mit Bezug auf bevorzugte Ausführungsformen beschrieben, z.B. bevorzugte Vorrichtungen, Behälter und Methoden, die zur Herstellung von Fibrinmonomer-Lösungen aus Vollblut oder Plasma nützlich sind. Jedoch werden Fachleute ohne weiteres verstehen, daß unter Verwendung der hier beschriebenen allgemeinen Verfahren auch andere Blut- oder Plasmakomponenten hergestellt oder extrahiert werden können.

[0014] Der Behälter von [Fig. 1](#) ist aus der obigen WO 96/16714 bekannt und ist aus im wesentlichen rotati-

onssymmetrischen Teilen aufgebaut, was bedeutet, daß der Behälter in eine in [Fig. 2](#) gezeigte Zentrifugenvorrichtung gestellt werden kann, um so um eine zentrale Achse **1** zentrifugiert zu werden. Der Behälter ist vorzugsweise aus einem medizinisch verwendbaren Kunststoffmaterial hergestellt, und ein Polycarbonat-Material ist bevorzugt. Selbstverständlich sollte das Material in dem Wellenlängenbereich des verwendeten optischen Sensors lichtdurchlässig sein. Der Behälter weist einen äußeren Behälterteil **2** und einen inneren Behälterteil **3** auf, die ganz ineinander sitzen und überall eng aneinander liegen, mit der Ausnahme des Abschnitts, wo ein sich axial erstreckender zwischenliegender Kanal **4** bereitgestellt ist. Der Kanal **4** ist durch eine in dem inneren Behälterteil **3** geformte Rille bereitgestellt. Die zwei Behälterteile **2** und **3** weisen ihre jeweiligen Böden **5** und **6** auf, wobei diese Böden eine zentrale Öffnung **7** umgrenzen, die den Durchgang einer Kolbenstange **8** erlaubt. Um die Öffnung **7** herum weisen die zwei Behälterteile sich axial erstreckende Abschnitte **9** bzw. **10** auf, die sich eng an der hohlen Kolbenstange **8** in eine Richtung weg vom Inneren der Behälterteile erstrecken. Der äußere Behälterteil **2** liegt entlang eines kurzen, sich radial erstreckenden Flansches **11**, der mit einer Aussparung **12** versehen ist, die einen Dichtungsring **13** aufnimmt, an der hohlen Kolbenstange **8** an.

[0015] Wie in [Fig. 1](#) gezeigt, setzt der Kanal **4** zwischen dem inneren und dem äußeren Behälterteil seinen Weg weiter fort, nämlich von den zylindrischen äußeren Wänden des inneren und äußeren Behälterteils aus entlang der Böden **5**, **6** und der axialen Abschnitte **9** und **10** bis zu der Öffnung unmittelbar unterhalb des Dichtungsringes **13** in der Öffnung **7**. Der an der Öffnung **7** anliegende axiale Abschnitt **10** des inneren Behälterteils **3** ist so bemessen, daß um die hohle Kolbenstange **8** herum ein schmaler, aber freier Durchgang zum Innenraum der Behälterteile **2** und **3** besteht.

[0016] Der äußere Behälterteil **2** weist einen zylindrischen Abschnitt eines einheitlichen Durchmessers auf, siehe [Fig. 1](#). Nach unten, gesehen in bezug auf die Zeichnung, setzt sich dieser Abschnitt über einen kurzen Übergangsabschnitt **15**, der eine kegelstumpfförmige innere Oberfläche **16** bildet, in einen zylindrischen Abschnitt **14** eines etwas größeren Durchmessers fort. Der innere Behälterabschnitt **3** endet an dem Ort, wo sich der Übergangsabschnitt **15** des äußeren Behälterteils **2** in den zylindrischen Abschnitt **14** eines größeren Durchmessers fortsetzt. Das untere Ende des inneren Behälterteils **3** weist eine kegelstumpfförmige äußere Oberfläche **17** auf, deren Form der Form der kegelstumpfförmigen Oberfläche **16** an der inneren Seite des äußeren Behälterteils **2** entspricht. Eine äußere und eine innere ringförmige Scheibe **19** bzw. **20** sind unmittelbar unterhalb des unteren Endes des inneren Behälterteils **3** vorgesehen, der in einer radialen Oberfläche **18** endet. Diese Scheiben liegen eng aneinander, abgesehen von der Tatsache, daß sie zwischen sich einen Kanal **21** begrenzen, der sich in einer axialen Ebene von einer zentralen Öffnung **22** aus und weiter zur Innenseite des äußeren Behälters **2** erstreckt, wo der Kanal **21** über einen sich axial erstreckenden Abschnitt **23** mit dem zwischen dem äußeren Behälterteil **2** und dem inneren Behälterteil **3** angeordneten Kanal **4** in Verbindung steht. Der Kanal **21** und der sich axial erstreckende Abschnitt **23** sind durch eine Rille in derjenigen Seite der inneren Scheibe **20**, die der äußeren Scheibe **19** zugewandt ist, auf eine geeignete Weise bereitgestellt. Die zwei Scheiben **19** und **20** sind mit einem solchen schrägen Verlauf geformt, daß sie im wesentlichen kegelstumpfförmige innere und äußere Oberflächen aufweisen und dadurch nach unten zur zentralen Öffnung **22** hin geneigt sind, in eine Richtung weg von der Öffnung **7** der hohlen Kolbenstange **8** im äußeren Behälterteil **2** und inneren Behälterteil **3**. [Fig. 1](#) zeigt auch, daß die innere Scheibe **20** eine radiale Oberfläche **24** aufweist, die an der angrenzenden radialen Oberfläche **18** des inneren Behälterteils **3** anliegt. Die radiale Oberfläche **24** der inneren Scheibe **20** ist mit einer Aussparung **25** zur Aufnahme eines Dichtungsringes **26** versehen.

[0017] Die zwei Scheiben **19** und **20** werden mittels eines Deckels **17**, der den äußeren Behälterteil **2** nach unten hin schließt, in einer Position gehalten, in welcher sie an der radialen Oberfläche **18** des inneren Behälterteils **3** anliegen. Dieser Deckel **17** weist einen manschettenförmigen Umfangsabschnitt **28** auf, der angepaßt ist, um eng an der inneren Seite des äußeren Behälterteils **2** anzuliegen, an welcher er auf eine geeignete Weise befestigt ist, wie beispielsweise mittels eines einrastenden Eingriffs zwischen einer Umfangsrippe **29** an der äußeren Seite der Manschette **28** und einer entsprechenden Umfangsrille **30** an der inneren Seite des äußeren Behälterteils **2**. Eine dichte Verbindung ist mittels eines Dichtungsringes **31** in einer Umfangsaussparung **32** am äußeren Rand der äußeren Scheibe **19** sichergestellt. Der Deckel **27** weist außerdem eine relativ dünne Wand **32** auf, die angepaßt ist, um den unteren Boden des Behälters in der in [Fig. 1](#) gezeigten Position zu bilden. Diese Wand **32** erstreckt sich im wesentlichen parallel zur äußeren und inneren Scheibe **19** und **20**, so daß sich die Wand **32** von der inneren Seite der Manschette **27** in einem an die Scheiben **19** und **20** angrenzenden Abschnitt aus und abwärts zu einem Abschnitt hin erstreckt, der im wesentlichen auf einer Höhe mit dem unteren Rand **33** des äußeren Behälterteils **2** ist. Um diese relativ dünne Wand **32** zu verstärken, ist in regelmäßigen Abständen eine radiale Verstärkungsrippe **34** vorgesehen, wobei nur eine dieser Rippen in [Fig. 1](#) zu sehen ist. Diese Rippe **34** ist teilweise mit einem außerhalb der Wand **32** angeordneten Abschnitt und teilweise mit einem innerhalb der Wand **32** angeordneten Abschnitt geformt, siehe [Fig. 1](#). Der letztgenannte innere Abschnitt ist mit dem Bezugszeichen **35** bezeichnet und ist so geformt, daß er an der unteren Seite der äußeren

Scheibe **19** anliegt, mit dem Ergebnis, daß er das Halten der Scheiben **19** und **20** in einer zuverlässigen Position unterstützt.

[0018] Eine Trenneinrichtung **36** ist zwischen der äußeren Scheibe **19** und dem Deckel **27** angeordnet. Diese Trenneinrichtung **36** weist ein zentrales Rohrstück **37** auf. Dieses Rohrstück ist an einem Stift **38** angebracht, der axial nach innen vorspringt und integral mit der Wand **32** des Deckels **27** geformt ist. Dieses Rohrstück **37** ist integral mit einer Umfangswandscheibe **39** geformt, die sich von dem Rohrstück **37** aus so nach außen erstreckt, daß sie anfänglich etwas nach unten zur Wand **32** des Deckels **27** hin geneigt ist, wonach sie sich entlang eines kurzen axialen Verlaufes erstreckt, um sich im weiteren Verlauf im wesentlichen parallel zur Wand **32** des Deckels zu erstrecken. Die Wandscheibe **39** endet in einem kurzen, sich radial erstreckenden Rand **40**, der auf einer Schulter **41** an den Rippenabschnitten **35** des Deckels **27** ruht. Eine ringförmige Filtereinheit **42** ist zwischen dem äußeren Rand **40** der Wandscheibe **39** und der unteren Seite der äußeren Scheibe **19** angeordnet. Diese ringförmige Filtereinheit **42** liegt an einer im wesentlichen radial geformten Oberfläche **43** an der angrenzenden äußeren Seite der äußeren Scheibe **19** an.

[0019] Um eine Stabilität der Trenneinrichtung **36** sicherzustellen, sind außerdem radiale Verstärkungsrippen, mit dem Bezugszeichen **44** bezeichnet, zwischen dem Rohrstück **37** und der Wandscheibe **39** eingesetzt.

[0020] Eine Kapsel, allgemein mit dem Bezugszeichen **45** bezeichnet, ist in dem zum Deckel **27** entgegengesetzten Ende des Rohrstücks **37** der Trenneinrichtung **36** eingesetzt. Die Kapsel weist ein längliches Rohrstück **46** auf, das integral mit einer radialen Scheibe **47** geformt ist und zwei zusätzliche radiale und ringförmige Scheiben **48** und **49** trägt. Diese radialen Scheiben **48** und **49** sind mittels Preßsitzes an ihrer jeweiligen Seite der festen Scheibe **47** angebracht. Mit Hilfe von Umfangsschultern **50** bzw. **51** an dem Rohrstück **46** sind die abnehmbaren Scheiben **48** und **49** in ihrem entsprechenden Abstand zum festen Ring **47** angepaßt. Die drei Scheiben **47**, **48** und **49** haben alle den gleichen Außendurchmesser und tragen entlang ihrer jeweiligen Ränder eine verschiebbar angebrachte Umfangsmanschette **52**.

[0021] Wie in der Zeichnung gezeigt, liegt die untere Scheibe **49** an dem oberen Ende des Rohrstücks **37** der Trenneinrichtung **36** an, wodurch die Position der Kapsel **45** in axialer Richtung festgelegt ist. Diese Position ist außerdem so festgelegt, daß, wenn die verschiebbare Manschette **52** der Kapsel **45** in axialer Richtung verschoben wird, sie über ihr unteres Ende in einen Dichtungseingriff mit der innersten Kante **53** der äußeren Scheibe **19** in der zentralen Öffnung **22** kommt, siehe Zeichnung. In dieser Position der Manschette **52** besteht immer noch eine Verbindung zwischen dem Raum innerhalb der inneren Scheibe **20**, die die Manschette **52** umgibt, und der Einlaßöffnung in den Kanal **21** zwischen der äußeren Scheibe **19** und der inneren Scheibe **20**. Die axiale Länge der verschiebbaren Manschette **52** ist so angepaßt, daß während der axialen Abwärtsverschiebung der Manschette **52** der Eingriff mit der äußeren Scheibe **20** erfolgt, bevor sich das obere Ende der Manschette **52** von dem festen Ring **47** löst, siehe Zeichnung. Außerdem ist der Innendurchmesser der Manschette **52** an den Außendurchmesser des sich axial erstreckenden Abschnitts der Wandscheibe **39** der Trenneinrichtung **36** angepaßt, so daß eine weitere Abwärtsverschiebung der Manschette **52** zum Deckel **27** hin bewirkt, daß die Manschette **52** fest mit der Trenneinrichtung **36** in Eingriff ist, sobald sie den Eingriff mit der äußeren Scheibe **19** gelöst hat. Außerdem entspricht die Länge des axialen Abschnitts der Trenneinrichtung **36** der axialen Länge der Manschette **52**, so daß die Manschette **52** in der untersten Position im wesentlichen vollständig von der Trenneinrichtung **36** aufgenommen ist.

[0022] Wie in der Zeichnung gezeigt, weist die hohle Kolbenstange **8** einen Umfangskolben **55** innerhalb des äußeren Behälterteils **2** und des inneren Behälterteils **3** auf, wobei der Kolben **55** durch einen Dichtungsring **56** dicht mit der inneren Seite des inneren Behälterteils **3** im Eingriff ist.

[0023] Innerhalb der hohlen Kolbenstange ist eine Luer-Kupplung **57** geformt, um eine herkömmliche Spritze **58** mit einem als Kolben wirkenden Stopfen **59** aufzunehmen, der auf den Inhalt der Spritze **58** wirkt. Die Kupplung **57** ist im wesentlichen wie ein Rohrstück geformt, das über einen kegelförmigen Abschnitt **60** mit einer zentralen Öffnung **61** in dem Kolben **55** in Verbindung steht. Das Rohrstück **57** ist mit einem radial nach innen vorspringenden Gewebe **62** versehen, um das Fluid, das die Spritze **58** verläßt, von einem axialen Pfad weg und dadurch um das darunter liegende längliche Rohrstück **46** im Innern der Kapsel **45** herum zu lenken. Das letztgenannte Rohrstück **46** hat eine solche Länge und solche Abmessungen, daß es mit dem Rohrstück **57** im Innern der hohlen Kolbenstange **8** in dichtem Eingriff sein kann, wenn der Kolben **55** in seiner tiefsten Position in der Nähe des Deckels **27** ist. Um die obige Dichtungsverbindung zu begünstigen, ist die innere Seite des Rohrstücks **57** an dem Ende, das an den Kolben **55** angrenzt, mit einem allmählich abnehmenden Durchmesser versehen.

[0024] Um die zentrale Öffnung **61** des Kolbens herum ist eine axial vorspringende Schürze **63** integral mit dem Kolben **55** geformt. Diese Schürze **63** ist mit einem solchen Durchmesser und einer solchen Länge gebildet, daß sie durch eine geeignete Verschiebung des Kolbens **55** die oben erwähnte Verschiebung der verschiebbaren Manschette **52** der Kapsel **45** in die erwähnten Positionen bewirken kann, in welchen sie mit dem inneren Rand **53** der durch die zwei Scheiben **19** und **20** hindurchgehenden zentralen Öffnung **22** in Eingriff ist, in Anschluß daran mit der Trenneinrichtung **36** in Eingriff ist.

[0025] Wie gezeigt, ist an der oberen Innenseite der Behälterteile **2** und **3** um den hohlen Kolben herum eine elastische ringförmige Lippendichtungseinrichtung **64** angebracht, siehe [Fig. 1](#). Diese Lippendichtungseinrichtung **64** ist angepaßt, um einen unerwünschten Durchgang von Fluid aus dem Inneren der Behälterteile **2** und **3** zu dem Kanal **4** zu verhindern, sie erlaubt aber den Durchgang von Fluid, wenn von dem Kolben **55** eine Kraft ausgeübt wird.

[0026] Wie im oberen Teil von [Fig. 1](#) gezeigt, ist durch eine Öffnung **66** in dem äußeren und dem inneren Behälterteil **2** bzw. **3** eine Verbindung zu einem Schlauch **65** bereitgestellt. Diese Verbindung ist bekannt und deshalb nicht detaillierter gezeigt, sie erlaubt aber eine Unterbrechung zum Schlauch, wenn erwünscht. Auf eine herkömmliche Weise ist zusätzlich eine Luftauslaßöffnung mit einem geeigneten Filter bereitgestellt und daher weder gezeigt noch detaillierter beschrieben.

[0027] Von dem Gebiet zwischen der Trenneinrichtung **36** und dem Deckel **27** aus und den gesamten Weg aufwärts durch das Innere des Rohrstücks **37** der Trenneinrichtung **36** und durch das Innere des Rohrstücks **46** der Kapsel **45** ist ein Durchgang **69** bereitgestellt. Dieser Durchgang **69** erlaubt eine Übertragung von Fluid von dem besagten Gebiet aus zu der Spritze **58**, wenn das letztgenannte Rohrstück **46** mit dem Rohrstück **57** im Inneren der Kolbenstange **8** verbunden ist. In dem Deckel **27** ist der Durchgang **66** am tiefsten Abschnitt des Stifts **38** dadurch bereitgestellt, daß der Stift **38** mit einer ebenen axialen Oberfläche geformt ist, wobei der Stift einen im wesentlichen kreisförmigen Querschnitt hat. Folglich ist ein Raum zwischen dem Stift und dem angrenzenden Abschnitt der inneren Seite des Rohrstücks **37** bereitgestellt. Ein Gebiet **67** ist unmittelbar oberhalb des Stifts **38** bereitgestellt, wo die Trenneinrichtung **36** einen etwas verringerten Innendurchmesser hat. Auf diese Weise ist es möglich, einen kleinen Filter **68** unmittelbar oberhalb dieses Gebiets anzuordnen, siehe [Fig. 1](#), wodurch das Fluid durch den Filter hindurch gehen muß, bevor es in das Rohrstück **46** der Kapsel **45** eintritt.

[0028] Der beschriebene Behälter weist eine erste ringförmige Kammer **70** auf, die einwärts durch den hohlen Kolben **8** begrenzt ist, der eine zylindrische innere Wand **71** bildet, und auswärts durch eine zylindrische äußere Wand **27** begrenzt ist, die von dem äußeren Behälterteil **2** und dem inneren Behälterteil **3** gebildet wird. In der herkömmlichen Verwendungsposition, siehe [Fig. 1](#), ist die ringförmige Kammer **70** nach oben hin durch eine obere Wand **73** begrenzt, die von dem Boden **5** und **6** des äußeren Behälterteils **2** bzw. des inneren Behälterteils **3** gebildet wird. Nach unten hin ist die ringförmige Kammer **70** durch eine untere Wand **74** begrenzt, die von dem Kolben **55** gebildet wird. Eine zweite Kammer **75** ist unterhalb des Kolbens **55** umgrenzt, wobei diese zweite Kammer nach außen hin durch die gleiche zylindrische Außenwand **72** wie die erste Kammer **70** begrenzt ist. Nach unten hin ist die zweite Kammer **75** durch eine zweite untere Wand **76** begrenzt, die von der äußeren Scheibe **19** und der inneren Scheibe **20** gebildet wird. Die Kapsel **45** ist zentral im Inneren der zweiten Kammer **75** untergebracht. Eine dritte Kammer **77** ist unterhalb der zweiten unteren Wand **76** bereitgestellt und diese dritte Kammer **77** ist durch die Trenneinrichtung **36** und die ringförmige Filtereinheit **42** begrenzt. Außerdem steht diese dritte Kammer **77** über den Durchgang, der von der zentralen Öffnung **22** in der äußeren Scheibe **19** und der inneren Scheibe **20** gebildet wird, mit der zweiten Kammer **75** in Verbindung. Schließlich ist eine vierte Kammer **78** unterhalb der Trenneinrichtung **36** bereitgestellt, wobei diese vierte Kammer **78** nach unten hin durch die Wand **32** des Deckels **27** und überdies durch einen Abschnitt der Manschette **28** des Deckels **27** und einen Abschnitt der unteren Seite der äußeren Scheibe **19** begrenzt ist.

[0029] Wie oben beschrieben, eignet sich der betreffende Behälter hauptsächlich zum Separieren einer Komponente, beispielsweise Fibrinmonomer, aus Blut, und zu diesem Zweck wird die zweite Kammer **75** und vorzugsweise die obere Kammer **80** der Kapsel **46** vorab mit einem geeigneten Enzym gefüllt, das die Abspaltung von Fibrinopeptiden A und/oder B aus Fibrinogen katalysieren kann, d.h. Fibrinogen in Fibrin umwandeln kann, wie beispielsweise Batroxobin. Wie aus der EP-PS Nr. 592242 zu verstehen ist, kann ein beliebiges thrombinähnliches Enzym verwendet werden. Zu diesen Enzymen zählen Thrombin selbst oder irgendein anderes Material mit ähnlicher Wirksamkeit, wie beispielsweise Ancrod, Acutin, Venyyme, Asperase, Botropase, Crotabase, Flavroxobin, Gabonase und das bevorzugte Batroxobin. Batroxobin kann chemisch an Biotin gebunden werden, das eine synthetische Substanz ist, die erlaubt, Batroxobin auf eine herkömmliche bekannte Weise mit Hilfe von Avidin in einer Avidin-Agarose-Zusammensetzung einzufangen. Dementsprechend befindet

sich Avidin-Agarose in der untersten Kammer **81** der Kapsel. Sowohl die Biotin-Batroxobin-Zusammensetzung als auch die Avidin-Agarose-Zusammensetzung sind relativ einfach in die entsprechende Kammer **80** und **81** innerhalb der Kapsel **45** zu füllen, bevor die Kapsel in der Vorrichtung angeordnet wird.

[0030] Schließlich ist noch eine Spritze **58** angeordnet, wobei die Spritze einen pH-4-Puffer enthält, der aus einem mit Essigsäure verdünnten Acetat hergestellt ist. Die Spritze **58** wird später zur Aufnahme der gewünschten Fibrinmonomer-Lösung verwendet.

[0031] Ein anderer im Stand der Technik bekannter Puffer kann auch verwendet werden. Das Wiederauflösungspuffermittel kann irgendeine saure Pufferlösung sein, vorzugsweise eine mit einem pH zwischen 1 und 5. Geeignete Beispiele dafür sind Essigsäure, Succinsäure, Glucuronsäure, Cysteinsäure, Crotonsäure, Itakonsäure, Glutonsäure, Ameisensäure, Asparginsäure, Adipinsäure und Salze davon. Succinsäure, Asparginsäure, Adipinsäure und Salze der Ameisensäure, z.B. Natriumacetat, sind bevorzugt. Außerdem kann mit Hilfe eines chaotropen Mittels die Solubilisierung bei einem neutralen pH durchgeführt werden. Geeignete Mittel sind Harnstoff, Natriumbromid, Guanidinhydrochlorid, KCNS, Kaliumjodid und Kaliumbromid. Konzentrationen und Volumina eines solchen sauren Puffers oder eines solchen chaotropen Mittels sind in der EP-PS Nr. 592242 beschrieben.

[0032] Während oder unmittelbar nach der Zugabe von Blut wird die Kolbenstange **8** so weit in das Innere des Behälters geschoben, daß die verschiebbare Manschette **52** der Kapsel **45** nach unten in einen Dichtungseingriff mit dem Durchgang durch die untere Wand **76** der zweiten Kammer **77** bewegt wird. Die Folge ist, daß gleichzeitig ein Zugang zu der Biotin-Batroxobin-Zusammensetzung innerhalb der obersten Kammer **80** der Kapsel geöffnet wird.

[0033] Wenn der Behälter für eine Verwendung bereit ist, wird auf herkömmliche Weise eine Blutprobe durch eine nicht gezeigte Nadel und den Schlauch **65** in die erste Kammer eingeführt, wobei dieser Blutprobe ebenfalls auf eine herkömmliche Weise vorzugsweise ein Antikoagulans beigemischt ist. Während der Zuführung des Bluts durch den Schlauch **65** und die Öffnung **66** in das Innere der ersten Kammer **70** wird auf eine herkömmliche Weise Luft aus der Kammer entfernt. Nach der Zuführung des Bluts wird der Schlauch **65** abgenommen und wird die Öffnung **66** dicht verschlossen. Anschließend wird der Behälter mit dem Blut in einer Zentrifugenvorrichtung angeordnet, die unter anderem dabei hilft, die verschiedenen Abschnitte dicht zusammenzupressen. Die Zentrifugenvorrichtung ist nachstehend beschrieben und bewirkt eine Drehung des Behälters um die Drehachse **1**. Als Folge der Zentrifugation wird in der ersten Kammer **70** aus dem Blut eine Plasmafraktion separiert, die sich radial innerhalb des restlichen Teils des Bluts ablagert, wobei der restliche Teil die roten und die weißen Blutzellen enthält. Wie in der EP-PS Nr. 592242 beschrieben, können durch Variieren der Drehzahl und Zeitdauer der Zentrifugation die Plättchen je nach Wunsch in einer von beiden Fraktionen vorhanden sein.

[0034] Wenn sich die Grenzfläche zwischen dem Plasma und dem restlichen Teil des Bluts stabilisiert hat, d.h. wenn die Separation vollständig abgeschlossen ist, wird damit begonnen, durch Herausziehen der Kolbenstange **8** und folglich des Kolbens **55** das Volumen der ersten Kammer **70** zu verringern. Als Folge strömt zuerst eine mögliche innere Luftschicht durch die Kanäle **4** und **21** in die zweite Kammer **75** und eine Weiterbewegung des Kolbens **55** hat zur Folge, daß auch das Plasma zu der zweiten Kammer **75** fließt. Die Bewegung des Kolbens **55** wird gestoppt, wenn die gesamte Plasmaschicht in die zweite Kammer **75** gedrückt ist, d.h. wenn die Grenzfläche zwischen der Plasmafraktion und dem restlichen Teil des Bluts die innere Wand **71** der ersten Kammer **70** erreicht hat.

[0035] In der zweiten Kammer **75** kommt die Plasmafraktion in Kontakt mit dem Enzym Batroxobin, mit dem Ergebnis, daß aus der Plasmafraktion Fibrinmonomer freigesetzt wird, das sofort zu einem nichtvernetzten Fibrinpolymer polymerisiert. Dieser Prozeß läuft ab, während der Behälter weiter zentrifugiert wird, mit dem Ergebnis, daß Fibrinpolymer wirkungsvoll aus dem restlichen Teil der Plasmafraktion separiert wird, wobei das Fibrinpolymer durch eine Reaktion der Biotin-Batroxobin-Zusammensetzung gebildet wird und als eine viskose Schicht entlang der zylindrischen äußeren Wand **72** abgelagert wird. Wenn diese Separation abgeschlossen ist, wird die Zentrifugation gestoppt, wodurch der restliche relativ fluide Teil der Plasmafraktion leicht in die erste Kammer **70** zurück gedrückt werden kann, indem der Kolben **55** zuerst angehoben wird, um Luft aus der ersten Kammer **70** zur zweiten Kammer **75** zu übertragen, und anschließend der Kolben **55** nach unten gedrückt wird. Diese Übertragung kann relativ einfach und schnell durchgeführt werden, bevor die viskose Schicht mit dem Fibrinpolymer die Öffnung des Kanals **21** erreicht. Gegebenenfalls können weitere Maßnahmen ergriffen werden, um zu verhindern, daß die viskose Schicht den Einlaß des Kanals **21** zu schnell erreicht, wie beispielsweise Bereitstellen eines Rings mit nach oben vorspringenden Zähnen **82**, mit punktierten Linien

gezeigt, am Boden **76**.

[0036] Nachdem der restliche Teil der Plasmafraktion aus der zweiten Kammer **75** ausgestoßen worden ist, wird die verschiebbare Manschette **52** der Kapsel **45** weiter nach unten verschoben, so daß ein Zugang zur untersten Kammer **81** ermöglicht wird. Gleichzeitig oder in Verbindung mit letzterer Verschiebung der Manschette wird mit Hilfe einer von außerhalb einwirkenden Spindel der Stopfen oder Kolben **59** der Spritze **58** ganz nach unten gedrückt, so daß der pH-4-Puffer zur zweiten Kammer **75** übertragen wird, was durchgeführt werden kann, während ein zentrifugales Rühren gestartet wird. Die Zugabe des pH-4-Puffers sorgt dafür, daß sich Fibrinpolymer darin löst, und die Anwesenheit der Avidin-Agarose-Zusammensetzung in der unteren Kammer **81** in der Kapsel **45** hat zur Folge, daß die Biotin-Batroxobin-Zusammensetzung auf eine herkömmliche Weise durch das Avidin gebunden wird. Ein weiteres Verschieben des Kolbens **55** bewirkt, daß die verschiebbare Manschette **52** der Kapsel **45** mit der Trenneinrichtung **36** in Eingriff kommt und den Eingriff mit der unteren Wand **76** löst, mit dem Ergebnis, daß ein freier Zugang zur dritten Kammer **77** bereitgestellt wird. Demzufolge kann der Inhalt der zweiten Kammer **75** frei nach unten in die dritte Kammer **77** fließen. Vorzugsweise wird das Wiederauflösen während eines zentrifugalen Rührens durchgeführt, das eine Zentrifugation und eine Reihe von Stops/Starts von Vorwärts/Rückwärts-Rührbewegungen beinhaltet.

[0037] Ein fortgesetztes Zentrifugieren hat den Effekt, daß die Fibrinmonomer-Lösung in der dritten Kammer durch die ringförmige Filtereinheit **42**, die die relativ großen Agarosepartikel und das daran gebundene Batroxobin zurückhalten kann, separiert werden kann. Wenn als Folge der oben genannten Zentrifugation die Fibrinmonomer-Lösung in die unterste vierte Kammer **78** gebracht worden ist, wird die Zentrifugation gestoppt und wird die Fibrin-I-Lösung durch ein erneutes Zurückziehen des Kolbens **59** auf eine einfache Weise in die Spritze **58** übertragen, wobei das oberste Ende des Rohrstücks **46** der Kapsel **45** mit dem Rohrstück **57** im Eingriff ist, wodurch die Verbindung mit der Spritze **58** hergestellt ist.

[0038] Die beschriebene Handhabung des in [Fig. 1](#) gezeigten Behälters wird in einer Zentrifugenvorrichtung des Typs durchgeführt, der schematisch in [Fig. 2](#) gezeigt ist.

[0039] Die in [Fig. 2](#) gezeigte Vorrichtung weist einen tragenden Drehtisch **101** auf, der mittels eines Kugellagers **102** drehbar in einem Gehäuse gelagert ist, das nicht detaillierter gezeigt ist. Der tragende Drehtisch **101** ist integral mit einer vertikalen Antriebswelle **103** gebildet. Die Antriebswelle ist über eine Kupplung **104** mit einem Motor **105** verbunden, wodurch sich der tragende Drehtisch um eine vertikale Drehachse drehen läßt. Koaxial mit der Drehachse ist eine Betätigungsstange **106** drehbar innerhalb der Drehwelle **103** des tragenden Drehtisches **101** gelagert, wobei die Betätigungsstange **106** über eine Kupplung **107** auf solche Weise an einen Spindelmotor **108** mit einer Spindel **109** angeschlossen ist, daß, wenn der Spindelmotor **106** eingeschaltet ist, die Betätigungsstange **106** vertikal nach oben oder nach unten verschoben werden kann, um einen an dem tragenden Drehtisch **101** angeordneten Behälter **110** zu greifen oder freizugeben.

[0040] Der Behälter **110** wird an der Oberseite des tragenden Drehtisches angeordnet, wobei der Behälter des in [Fig. 1](#) gezeigten Typs ist. Der Kolben **55** des Behälters **110** wird mit Hilfe der rohrförmigen Kolbenstange **8** angetrieben, die vom oberen Ende des Behälters **110** aus nach oben vorspringt, siehe [Fig. 1](#). Die Kolbenstange **8** wird mit Hilfe einer Greifeinrichtung **113** betätigt, die wiederum durch einen Spindelmotor **115** über eine Spindel **116** und eine integral damit verbundene Betätigungsstange (nicht gezeigt) betätigt wird. Die von dem Motor **115** angetriebene Spindel **116** betätigt über diese Betätigungsstange auch den Kolben **59** der Spritze **58**, siehe [Fig. 1](#).

[0041] Die Greifeinrichtung **113** ist ferner über ein Kugellager drehbar in einem Gehäuse **118** gelagert. Das Gehäuse **118** und der Spindelmotor **115** sind an einem gemeinsamen Träger angebracht, der mit punktierten Linien beim Bezugszeichen **119** angedeutet ist. Dieser Träger **119** ist verschiebbar an einer Schiene **120** angebracht und wird von einem Motor **121** daran vertikal verschoben. Der Motor **121** wirkt über eine Kugelspindel mit einer stationär in der Vorrichtung angebrachten Kugelmutter **123** auf eine solche Weise zusammen, daß eine Drehung der Kugelspindel **122** durch den Motor **121** eine Bewegung des Trägers **119** und folglich der Greifeinrichtung **113** entlang der Schiene **20** bewirkt.

[0042] Gemäß den vorliegenden erfindungsgemäßen Vorrichtungen und Verfahren kann die Zugabe der Menge von pH-4-Puffer und folglich die Betätigung der Spritze **58**, siehe [Fig. 1](#), gemäß einer vorab festgelegten hinzuzufügenden Puffermenge erfolgen oder kann als Antwort auf die in der zweiten Kammer **75** des Behälters **110** vorhandene Menge von nichtvernetztem Fibrinpolymer erfolgen. Gemäß der vorliegenden Erfindung wird die in der zweiten Kammer **75** vorhandene Menge an Fibrinpolymer mit Hilfe eines Photometers **130** gemessen, das stationär in der Vorrichtung vor der Position der zweiten Kammer **75** angeordnet ist. Das Pho-

tometer weist eine lichtemittierende Vorrichtung und einen Lichtsensor (nicht gezeigt) auf, der so angeordnet ist, daß die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand des Behälters **110** gemessen werden kann. Irgendein Lichtemitter kann verwendet werden, abhängig vom Material der Wand. Bevorzugte Lichtemitter haben einen Wellenlängenbereich von 400 bis 1100 Nanometer. Bevorzugt sind LEDs mit einer Wellenlänge von 920 oder 654 nm. Das Modell SFH460 von Siemens ist für diesen Zweck geeignet. Dieses Photometer **130** mißt die Menge an Fibrinpolymer an der äußeren Wand der zweiten Kammer **75**, indem die Abnahme der Lichtintensität, die durch die Kammerwand mit dem Polymer daran hindurch gelassen wird, im Vergleich zu einer Referenzmessung des Lichtdurchlasses durch die Wand allein beobachtet wird. Die Transmissionsmessungen können kontinuierlich durchgeführt werden, zumindest während des Zeitraums, der unmittelbar vor Zugabe des pH-Puffers beginnt und der endet, nachdem diese Zugabe beendet ist. Zu Beginn dieses Zeitraums wird die Dicke und folglich die Menge des Fibrinpolymers erfaßt und darauf basierend wird die hinzuzufügende Menge pH-4-Puffer bestimmt. Letztere Bestimmung der Menge des pH-4-Puffers wird in einer Steuereinheit **131** durchgeführt, die über eine Leitung **132** Information über die gemessenen Werte des Photometers empfängt. In Anschluß daran aktiviert die Steuereinheit **131** über eine Leitung **133** den Motor **115**, um die Spindel **116** und folglich die Betätigungsstange anzutreiben, die wiederum den Kolben **59** der Spritze **58** betätigt.

[0043] In einer anderen bevorzugten Ausführungsform, wie in [Fig. 2](#) gezeigt, ist ein zweites Photometer **130'** zu sehen. Wie oben beschrieben, ist während der Ablagerung der polymerisierten Komponente aus dem flüssigen Plasma/Serum an die lichtdurchlässige Kammerwand die Lichtausstrahlung des Lichtemitters vorzugsweise kontinuierlich. [Fig. 2a](#) zeigt, teilweise im Querschnitt, die Beziehung zwischen der polymerisierten Komponente, der Flüssigkeit (Plasma oder Serum) und dem Kolben **55** während der zentrifugalen Ablagerung der polymerisierten Komponente an der Wand. Da die Flüssigkeit einen Einfluß auf die Genauigkeit der mit dem ersten Photometer **130** beobachteten Daten haben kann, ist das zweite Photometer **130'** in einer Position angeordnet, wo zu erwarten ist, daß es Licht durch die Wand und die Flüssigkeit ausstrahlt, aber nicht durch die polymerisierte Komponente. Ein Vergleich dieser Meßdaten kann den möglichen Einfluß der Flüssigkeit auf die Genauigkeit der Meßdaten ausschließen.

[0044] Es ist auch nützlich, zu erwähnen, daß in einer anderen bevorzugten Ausführungsform das oder die mehreren Photometer **130** und **130'** moduliert sein sollten, so daß der Detektorabschnitt "eingeschaltet" bleibt, aber der LED-Puls "ein- und ausgeschaltet" ist. Auf diese Weise kann der Detektorabschnitt der Photometer Hintergrundlicht berücksichtigen (und programmiert sein, dieses zu ignorieren), das in der Nähe der vorliegenden Vorrichtung sein kann. Die Modulation der LEDs ist vorzugsweise bei einer Frequenz, die nicht gleich oder nicht ein Vielfaches der Drehzahl der Zentrifuge ist.

[0045] [Fig. 3](#) zeigt einen Graph der Messungen des Photometers, aufgetragen gegen die Zeit. Der Graph zeigt die Messungen des Photometers vom Start der Zentrifugenvorrichtung an bis zum Ende der Zugabe des pH-4-Puffers in die zweite Kammer **75**. Der Abschnitt des Graphen zwischen A und B zeigt die Meßdaten, die gewonnen werden, wenn der Kolben **55** in einer unteren Position ist und den Durchgang für das Signal des Photometers blockiert. Bei C ist der Kolben angehoben und das Photometer mißt den Lichtdurchlaß durch das Kunststoffmaterial allein, aus welchem der Behälter besteht, während die zweite Kammer **75** immer noch leer ist. Die Messung bei C wird zum Kalibrieren des Photometers verwendet, so daß die nachfolgenden Messungen die Transparenz des Behälters **110** berücksichtigen, die von Behälter zu Behälter unterschiedlich ist. Von C bis D wird das Plasma zusammen mit etwas Luft zur zweiten Kammer **75** übertragen. Von D bis E wird die Luft in dem Plasma entfernt und das Enzym, beispielsweise Batroxobin, wird in der zweiten Kammer **75** freigesetzt. Um den Punkt E herum liefern die Messungen auch Information über Merkmale, wie beispielsweise Konzentration und Klarheit des Bluts, die von Blut zu Blut variieren können. Von E bis D wird das nichtvernetzte Fibrinpolymer aus der Plasmafraktion freigesetzt. Von F bis G wird der restliche, relativ fluide Anteil der Plasmafraktion zur ersten Kammer **70** übertragen, indem durch Anheben des Kolbens **55** zuerst Luft aus der ersten Kammer **70** zur zweiten Kammer **75** gezogen wird. Dann wird durch Senken des Kolbens **55** die restliche fluide Plasmafraktion zur ersten Kammer **70** übertragen. Während dieser Zeit wird mehrmals zentrifugiert und mehrmals der Kolben betätigt, mit dem Ergebnis, daß die gesamte fluide Plasmafraktion aus dem Fibrinpolymer entfernt ist. Bei G zeigt die Messung die Dicke des reinen Fibrinpolymers und somit die in der zweiten Kammer **75** vorhandene Menge Fibrinpolymer. Auf der Basis dieser Messung wird die hinzuzufügende Menge pH-4-Puffer bestimmt. Zwischen G und H erfolgt das Auflösen des Fibrinpolymers mit Hilfe des zugeführten pH-4-Puffers.

[0046] Wenn die gewünschte Menge pH-4-Puffer hinzugefügt worden ist, wird die Betätigung des Kolbens **59** der Spritze **58** gestoppt. Die in der Spritze **58** gegebenenfalls verbleibende Menge pH-4-Puffer wird erst später in die zweite Kammer ausgestoßen und zwar unmittelbar bevor das Rohrstück **46** mit der Spritze **58** verbunden wird, um die Fibrinmonomer-Lösung aus der vierten Kammer **78** zu saugen.

[0047] Gemäß der vorliegenden Erfindung und wie oben diskutiert, kann die an der Wand abgelagerte Menge Fibrinpolymer unter Verwendung eines Photometers bestimmt werden, das eine Lichtquelle, z.B. LED, Laser oder einen anderen Lichtemitter, und einen Sensor aufweist, der angeordnet ist, um die Abnahme des Lichtdurchlasses durch die Kammerwand zu messen, während das Fibrin daran abgelagert wird. Irgendein geeignetes Photometer kann verwendet werden und der Wellenlängenbereich der Lichtquelle wird in Hinblick auf den Empfindlichkeitsbereich des abgelagerten Materials und unter Berücksichtigung des Wandmaterials gewählt. Im Falle der Ablagerung von Fibrinpolymer an der Kammerwand hat sich eine lichtemittierende Diode (LED), die Licht einer Wellenlänge von 654 Nanometer emittiert, als nützlich erwiesen. Die Abnahme des Lichtdurchlasses wird dadurch erreicht, daß vor einer Ablagerung von Fibrinpolymer eine Referenzmessung (R) des Lichtdurchlasses durch die Kammer durchgeführt wird und dann der endgültige Lichtdurchlaß (F) gemessen wird, nachdem die Fibrinpolymerablagerung abgeschlossen ist. Eine Korrelation zwischen dem natürlichen Logarithmus eines Vergleichs dieser Lichtdurchlaßintensitäten und der Fibrinmasse kann wie folgt ausgedrückt werden:

$$\text{Fibrinmasse} = C \cdot \ln((R/F)) \quad (1)$$

wobei C ein Komponentenkoeffizient, z.B. ein Fibrinkoeffizient, ist.

[0048] Der Fibrinkoeffizient (C) kann experimentell ermittelt werden, indem der Prozeß gestoppt wird und in einer Reihe von Durchgängen die Fibrinmasse für beobachtete Werte von $\ln(R/F)$ gemessen wird. Durch eine graphische Darstellung der experimentell gemessenen Fibrinmasse in Abhängigkeit von der beobachteten Abnahme des Lichtdurchlasses, ist es möglich, einen Fibrinkoeffizienten zu bestimmen (die Steigung der dargestellten Linie).

[0049] Danach geben die gemessenen Abnahmen des Lichtdurchlasses, ausgedrückt als $\ln(R/F)$, multipliziert mit dem Fibrinkoeffizienten die gebildete Menge Fibrinpolymer an und die Kenntnis einer vorgegebenen Menge Lösungsmittel oder Puffer, die zu verwenden ist, um das Fibrinpolymer zu solubilisieren, liefert die Konzentration der resultierenden Fibrinmonomer-Lösung. Es ist offensichtlich, daß der Komponentenkoeffizient für verschiedene Prozesse und verschiedene Blut- oder Plasmakomponenten neu ermittelt werden müßte. Diese Konzentration kann wie folgt ausgedrückt werden:

$$(2) \quad \text{Conc} = \frac{\text{Fibrinmasse}}{V_T}$$

wobei Conc die Konzentration,

V_T das Gesamtvolumen und $V_T = F_{\text{mass}} + V_B$ ist, wobei V_B der Wert des Puffers oder der Lösung ist, der/die hinzugefügt wird, um das Fibrin zu solubilisieren.

[0050] Gemäß dem oben beschriebenen Prozeß hat es sich auch herausgestellt, daß etwas Serum oder andere Proteine aus der Blut- oder der Plasmaquelle in und nahe dem an der Wand abgelagerten Fibrinpolymer eingefangen werden. Tatsächlich kann die wirkliche Fibrinmasse nur ein kleiner Teil der abgelagerten Fibrin/Serum-Masse sein. Dies hängt von dem verwendeten Prozeß ab, d.h. dies kann entsprechend der Drehzahl (U/min) und Dauer der Zentrifugation während der Ablagerung des Fibrinpolymers an der Wand variieren. Beispielsweise hat es sich herausgestellt, daß beim Zentrifugieren von Plasma (gewonnen aus 120 ml Blut) mit ungefähr 9000 U/min für ungefähr 5 bis 10 Minuten in Anwesenheit von ausreichenden Mengen Enzym, das Fibrinogen in Fibrin umwandelt, die wirkliche Fibrinmasse nur ungefähr 5 bis 10% der Fibrin/Serum-Masse ist, die an der Wand abgelagert wird. In dem Fall, daß Serum vorhanden ist, kann die Konzentration wie folgt ausgedrückt werden:

$$(3) \quad \text{Conc} = \frac{\text{Fibrinmasse}}{V_S + V_B}$$

wobei V_S das Volumen von Fibrin und von im Fibrin zurückgehaltenem Serum ist.

[0051] Es ist experimentell ermittelt worden, daß das Volumen (V_S) aus Fibrin + Serum eine lineare Beziehung mit der Fibrinmasse hat, was wie folgt ausgedrückt werden kann:

$$V_S = a + b \cdot \text{Fibrinmasse} \quad (4)$$

wobei a das Volumen des Serums allein und
b das Volumen von Fibrin pro mg Fibrin + Serum ist.

[0052] Sowohl (a) als auch (b) können durch graphische Darstellung der gemessenen (Fibrin + Serum)-Masse in Abhängigkeit von der Fibrinmasse experimentell bestimmt werden, wobei (a) der y-Abschnitt und (b) die Steigung der dargestellten Linie ist.

$$(5) \quad \text{Conc} = \frac{\text{Fibrinmasse}}{V_B + a + b \cdot \text{Fibrinmasse}}$$

[0053] Ersetzen von "Fibrinmasse" in Formel (5) in beiden Fällen durch Formel (1) liefert den folgenden Ausdruck:

$$(6) \quad \text{Conc} = \frac{C \cdot \ln(R/F)}{V_B + a + b \cdot C \cdot \ln(R/F)}$$

[0054] Somit kann für einen gegebenen Prozeß, in welchem C, a und b wie oben beschrieben experimentell bestimmt worden sind und in welchem das Volumen (V_B) des Solubilisierungspuffers bekannt ist, die Konzentration einer Blutkomponentenlösung, z.B. einer Fibrinmonomer-Lösung, bestimmt werden, indem die Abnahme des Lichtdurchlasses durch ein abgelagertes Polymer, aus welchem die Lösung hergestellt wird, beobachtet wird und obige Formel (6) verwendet wird.

[0055] Mit anderen Worten, eine mikroprozessorgesteuerte Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung kann mit der Formel und mit den experimentell bestimmten obigen Koeffizienten für einen gegebenen Prozeß programmiert werden, so daß Signale aus den Photometermessungen durch die Kammerwand vor und nach Ablagerung der polymerisierten Komponente den Mikroprozessor ermöglichen, die Konzentration der Blutkomponentenlösung zu bestimmen, die sich aus der Solubilisierung der polymerisierten Komponente mit einer bekannten Menge Puffer oder Lösungsmittel ergeben wird. Ferner können gemäß der vorliegenden Erfindung Dosierabgabeeinrichtungen für den Puffer oder das Lösungsmittel bereitgestellt sein, so daß variierende Mengen Puffer oder Lösungsmittel verwendet werden können, um die polymerisierte Blutkomponente in die gewünschte Lösung zu solubilisieren.

[0056] Auf diese Weise kann unabhängig von der Anfangskonzentration der Komponente im Blut eine Lösung einer gewünschten Konzentration der Blutkomponente hergestellt werden, indem die abgelagerte Menge von Fibrinpolymer (und Serum) bestimmt wird und als Antwort auf diese Information eine Menge Puffer zugeführt wird, wodurch sich von Arbeitsgang zu Arbeitsgang die gleiche Konzentration ergibt. Dies wird erreicht, indem die Gleichung (6) wie nachstehend umgeschrieben wird, um sie nach der Menge Puffer (V_B) aufzulösen, die benötigt wird, um eine Lösung der gewünschten Konzentration (Conc) herzustellen.

$$V_B = C \cdot \ln(R/F) \cdot ((1/\text{Conc}) - b) - a$$

[0057] Somit liefert die vorliegende Erfindung Vorrichtungen und Verfahren zur Herstellung von Lösungen von Blutkomponenten, z.B. Fibrinmonomer-Lösungen, in gewünschten konstanten Konzentrationen, selbst wenn mit Blut oder Plasma gestartet wird, das variable Anfangskonzentrationen von Fibrinogen, z.B. 1 bis 10 mg/ml, hat, wie sie in der menschlichen Bevölkerung anzutreffen sind.

[0058] Die Erfindung ist mit Bezug auf eine bevorzugte Ausführungsform beschrieben worden. Viele Modifikationen in bezug auf Photometer, Vorrichtung, Behältermaterialien, Prozeß und gewünschte Komponenten können vorgenommen werden, ohne von dem Bereich der Erfindung abzuweichen, wie er durch die angefügten Ansprüche definiert ist.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer Lösung einer Blut- oder Plasmakomponente und Bestimmen der Konzentration dieser Komponente in der Lösung, wobei das Verfahren die Schritte aufweist:

a) Unterwerfen von Blut oder Plasma in einer Kammer (75) einer Vorrichtung, die eine lichtdurchlässige Wand (72) aufweist, Bedingungen, welche die Bildung einer polymerisierten Form der Komponente aus dem Blut

oder Plasma katalysieren;

b) Ablagern der polymerisierten Form der Komponente auf der lichtdurchlässigen Wand (72);

c) Verwenden eines Vergleichs von Intensitäten einer konstanten Lichtdurchstrahlung durch die lichtdurchlässige Wand (72) mit und ohne die polymerisierte Komponente darauf, um die Menge der polymerisierten Komponente zu bestimmen; und

d) Kombinieren der in Schritt c) gewonnenen Information mit der Menge Puffer oder Lösungsmittel, die zum Solubilisieren der polymerisierten Komponente in die Lösung der Blut- oder Plasmakomponente verwendet wird, um die Konzentration der Komponente in der Lösung zu erreichen.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Blut- oder Plasmakomponente Fibrinmonomer ist.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die polymerisierte Form der Polymermasse der Komponente aus dem Vergleich von Lichtdurchlaßintensitäten unter Verwendung der folgenden Formel bestimmt wird:

$$\text{Polymermasse} = C \cdot \ln(R/F)$$

wobei C ein Komponentenkoeffizient ist;

R die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand allein ist; und

F die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand plus Polymer ist.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für einen konstanten Prozeß der Herstellung einer gegebenen Komponentenlösung der Komponentenkoeffizient C die Steigung einer Kurve in einer graphischen Darstellung der gemessenen Polymermasse in Abhängigkeit von $\ln(R/F)$ ist.

5. Verfahren nach Anspruch 1, ferner dadurch gekennzeichnet, daß sich die Konzentration Conc aus der folgenden Formel bestimmen läßt:

$$\text{Conc} = \frac{C \cdot \ln(R/F)}{V_B + C \cdot \ln(R/F)}$$

wobei V_B das hinzugegebene Volumen Puffer oder Lösungsmittel ist;

C ein Komponentenkoeffizient ist;

R die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand allein ist; und

F die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand plus Polymer ist.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß etwas Plasmaserum in und in der Nähe der polymerisierten Komponente zurückgehalten wird.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß sich die Konzentration Conc aus der folgenden Formel bestimmen läßt:

$$\text{Conc} = \frac{C \cdot \ln(R/F)}{V_B + a + b \cdot C \cdot \ln(R/F)}$$

wobei V_B das Volumen von Puffer oder Lösungsmittel ist;

a das Volumen von Serum allein ist;

b das Volumen des Polymers pro mg Polymer/Serum-Masse ist;

C ein Komponentenkoeffizient ist;

R die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand allein ist; und

F die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand plus Polymer ist.

8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Antwort auf die Bestimmung der Menge der polymerisierten Komponente in Schritt (c) die Menge Puffer oder Lösungsmittel gesteuert wird, um eine gewünschte Konzentration der Komponentenlösung bereitzustellen.

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß sich die Menge V_B Puffer oder Lösung durch Einsetzen der gewünschten Konzentration Conc in die folgende Gleichung bestimmen läßt:

$$V_B = C \cdot \ln(R/F) / ((1/\text{Conc}) - b) - a$$

wobei:

- a das Volumen von Serum allein ist;
- b das Volumen des Polymers pro mg Polymer/Serum-Masse ist;
- C ein Komponentenkoeffizient ist;
- R die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand allein ist; und
- F die Lichtdurchlaßintensität durch die Wand plus Polymer ist.

10. Vorrichtung zur Herstellung einer Lösung einer Blut- oder Plasmakomponente, wobei die Vorrichtung eine Einrichtung zur Bestimmung der Konzentration der Komponente aufweist, mit:

- a) einer Einrichtung zur Ablagerung einer polymerisierten Form der Komponente aus dem Blut oder Plasma auf einer lichtdurchlässigen Wand (**72**) einer Reaktionskammer (**75**) der Vorrichtung;
- b) eine optische Einrichtung (**130**) zum Bestimmen der auf der Außenwand (**72**) abgelagerten Menge der polymerisierten Komponente;
- c) eine Einrichtung zum Solubilisieren des Polymers mit einem Lösungsmittel, um die Lösung der Komponente bereitzustellen; und
- d) eine Einrichtung zum Berechnen der Konzentration der Lösung aus der Menge der abgelagerten polymerisierten Komponente und der verwendeten Menge Lösungsmittel.

11. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente ein Fibrinmonomer ist, ausgewählt aus Fibrin I, Fibrin II oder des-BB-Fibrin.

12. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Ablagerungseinrichtung aufweist:

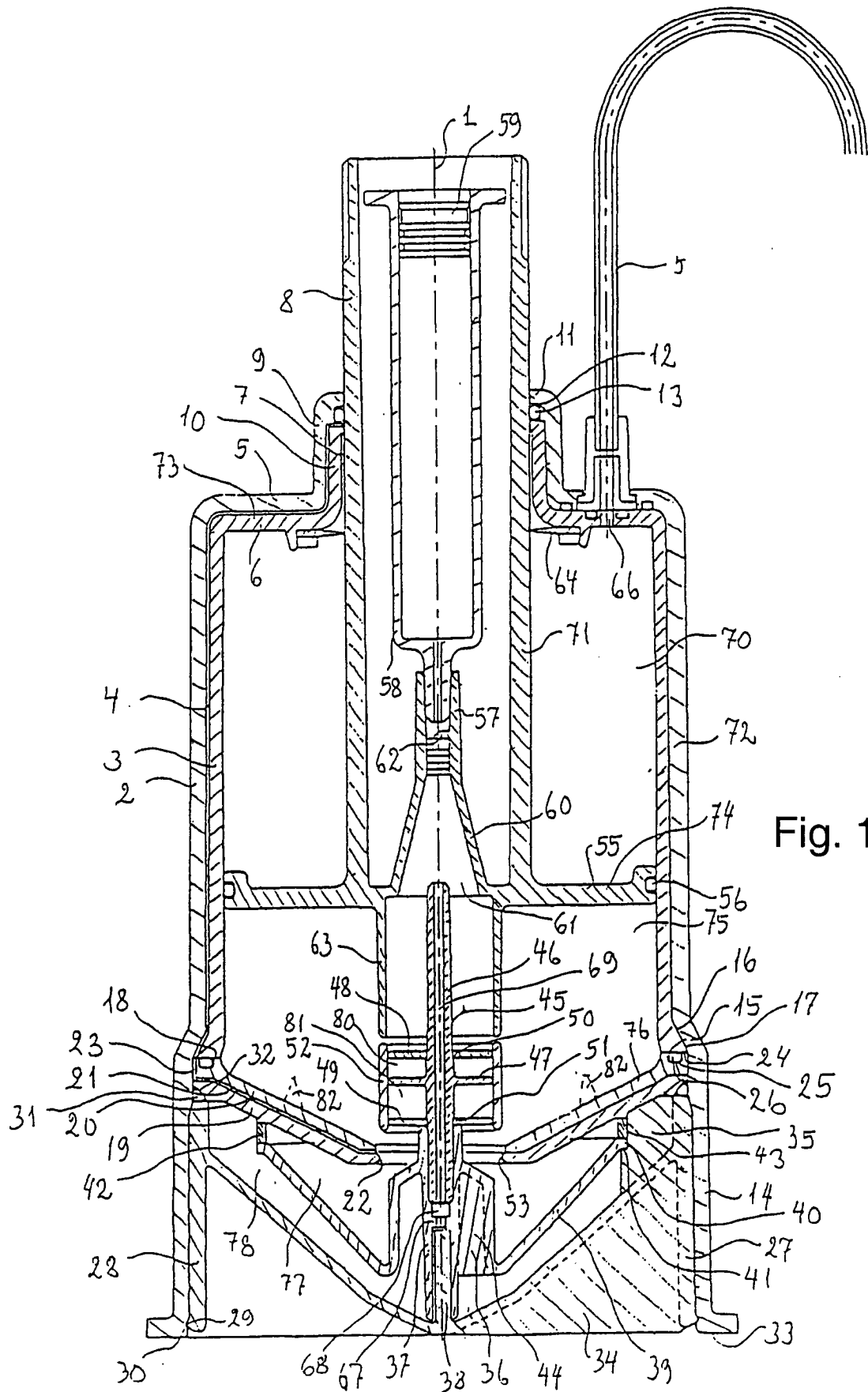
- i) eine Reaktionskammer (**75**) mit einer Außenwand (**72**), wobei die Reaktionskammer (**75**) das Blut oder Plasma empfängt und außerdem ein Reagens enthält, um die Polymerisation der Komponente aus dem Blut oder Plasma zu katalysieren, oder außerdem eine Einrichtung zum Einführen des Reagens in die Kammer aufweist; und
- ii) eine Einrichtung zum Drehen der Kammer (**75**) um eine Längsachse, so daß, wenn das Blut oder Plasma in der Kammer (**75**) zentrifugiert wird und dem Reagens ausgesetzt wird, die Komponente als ein Polymer an der Außenwand (**72**) abgelagert wird.

13. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die optische Einrichtung (**130**) ein Photometer aufweist, das wiederum eine oder mehrere Lichtquellen einer konstanten Wellenlänge und dazugehörige Sensoren aufweist, wobei die Lichtquellen so in der Vorrichtung angeordnet sind, daß die Intensitätsdifferenz zwischen dem Lichtdurchlaß durch die Reaktionskammerwand allein und dem Lichtdurchlaß durch diese Wand mit daran angeordneter polymerisierter Komponente gemessen werden kann.

14. Vorrichtung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Photometer (**130**) in einer Signalverbindung mit einer Steuereinrichtung (**131**) ist, die die zum Solubilisieren der Komponente zu verwendende Menge des Lösungsmittels so dosiert, daß eine Lösung einer gewünschten Konzentration hergestellt wird.

Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



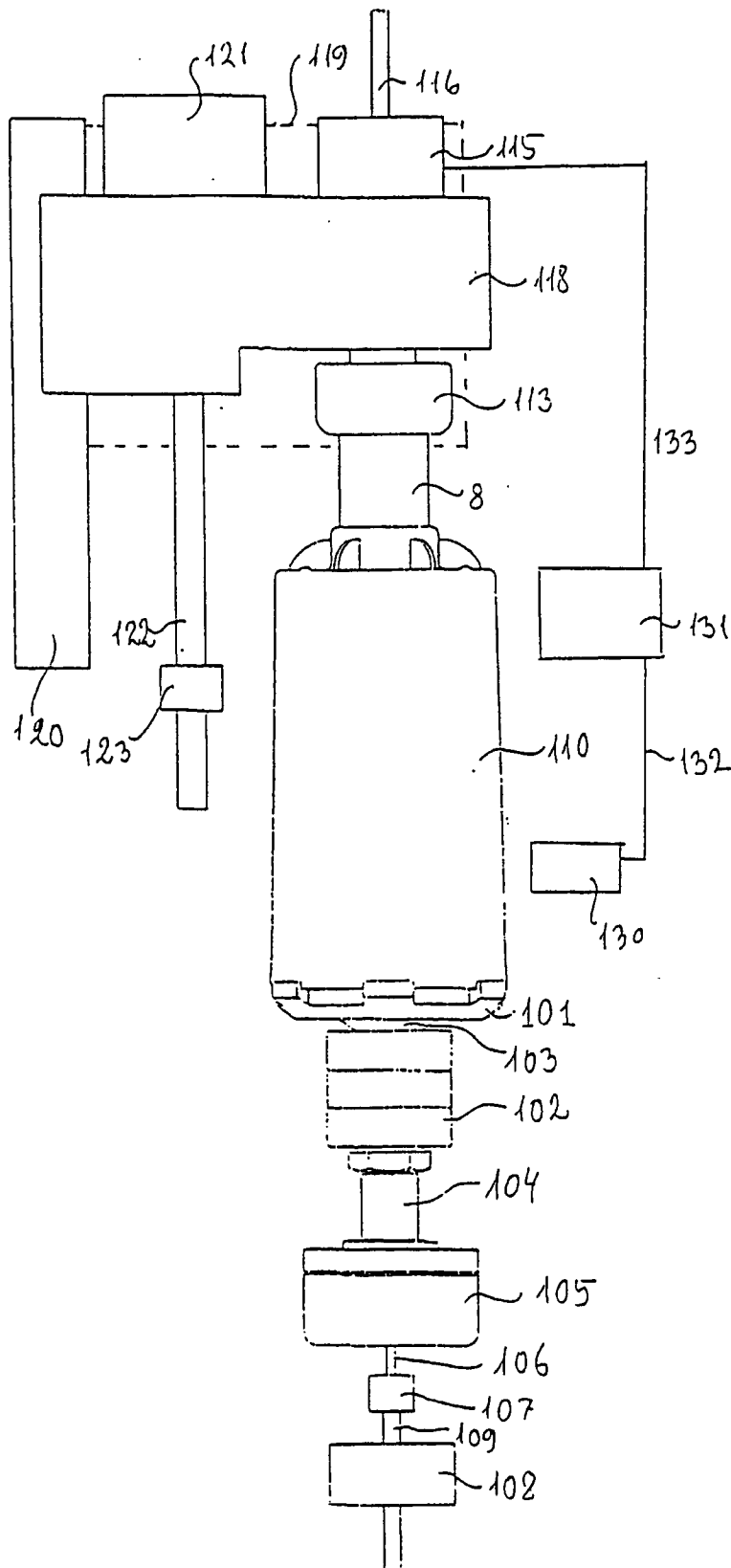


Fig. 2

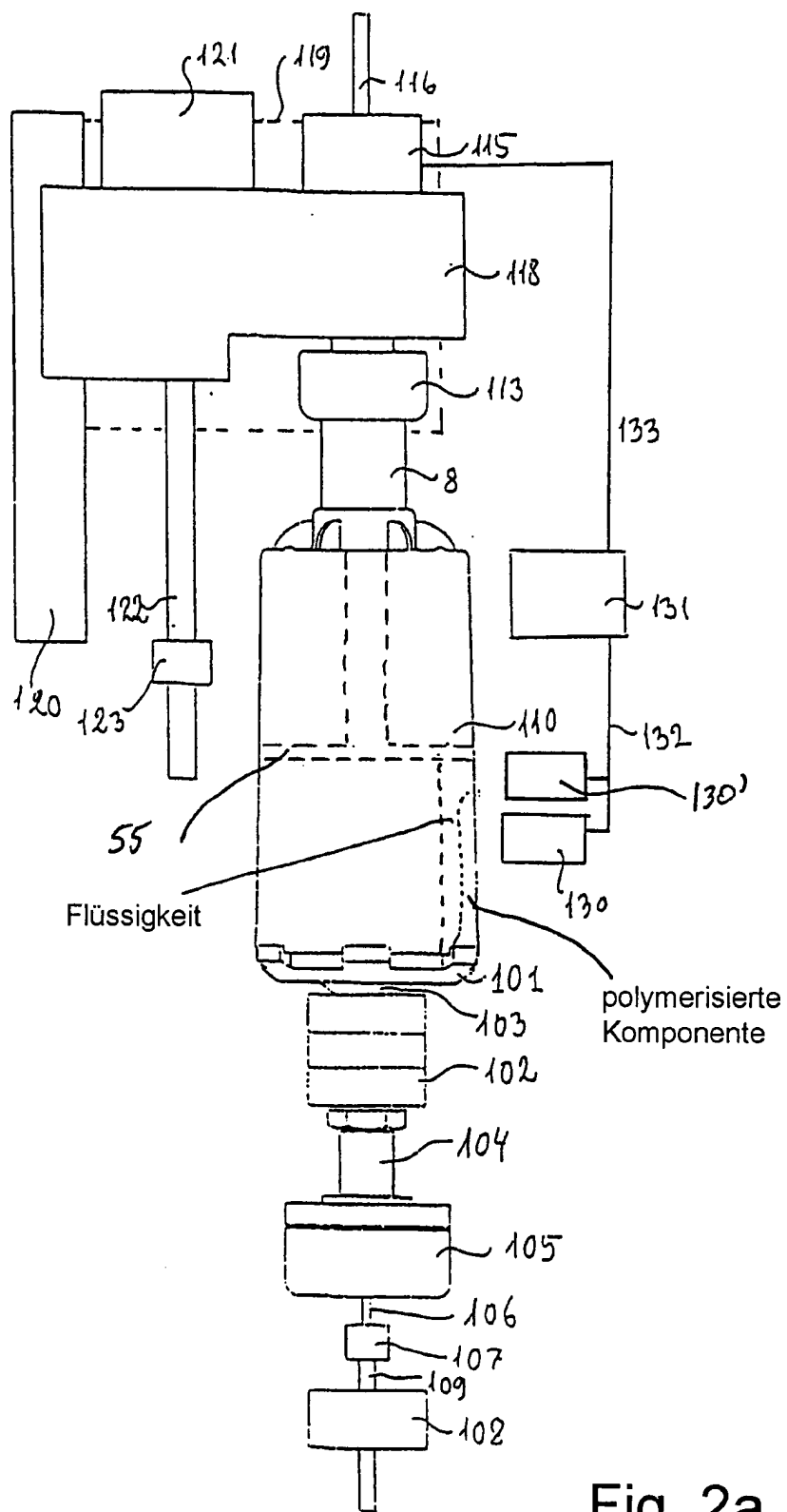


Fig. 2a

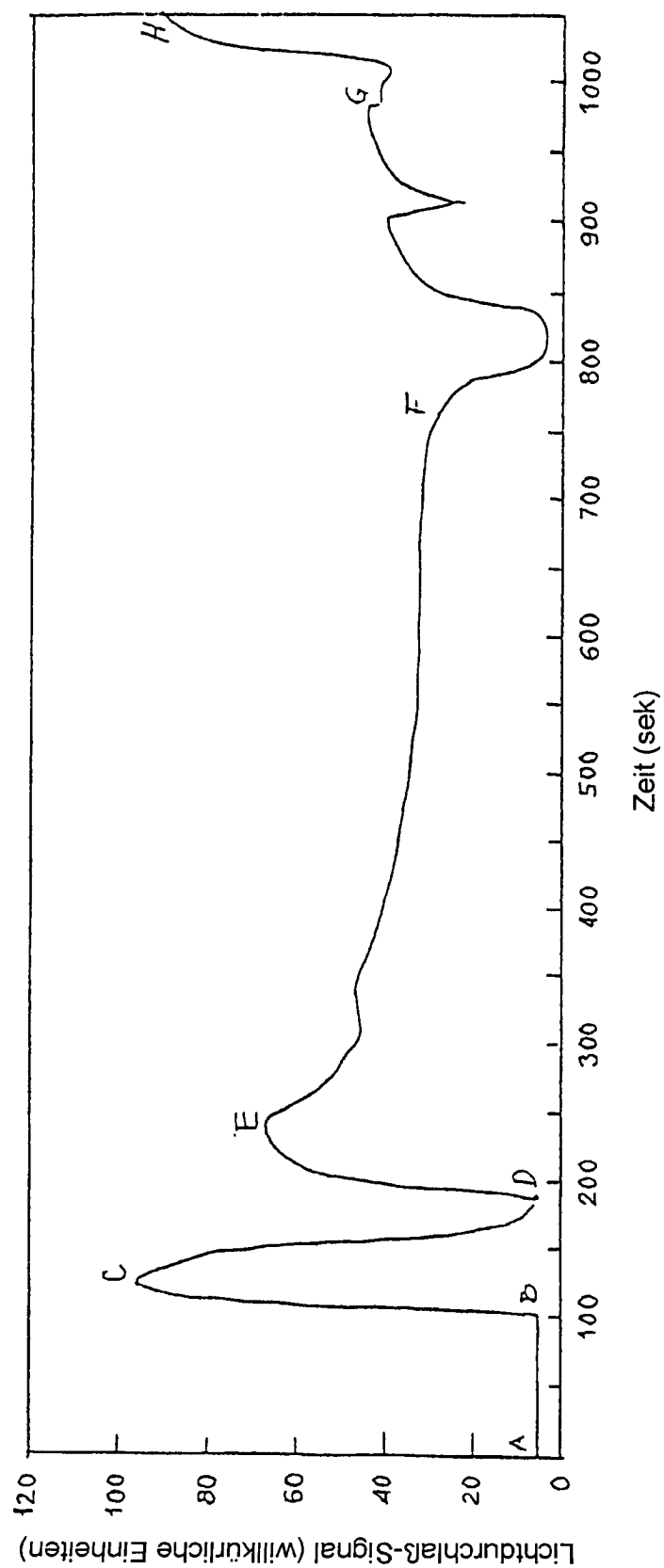


Fig. 3