

(12) **Gebrauchsmusterschrift**

(21) Anmeldenummer: GM 50075/2023 (51) Int. Cl.: **B01L 3/00** (2006.01)
(22) Anmeldetag: 03.05.2023
(24) Beginn der Schutzdauer: 15.11.2024
(45) Veröffentlicht am: 15.11.2024

(56) Entgegenhaltungen:
EP 2320208 A1
JP 2001269328 A
EP 1860436 A1

(73) Gebrauchsmusterinhaber:
Greiner Bio-One GmbH
4550 Kremsmünster (AT)

(74) Vertreter:
Anwälte Burger und Partner Rechtsanwalt
GmbH
4580 Windischgarsten (AT)

(54) **Blutentnahmeröhrchen**

(57) Die Erfindung betrifft ein Blutentnahmeröhrchen umfassend einen röhrenförmigen Behälter mit einer Öffnung an einem Ende und einem Boden am anderen Ende, der dem einen Ende gegenüber liegt, und eine Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren, wobei die Suspension im Wesentlichen auf einer gesamten Innenoberfläche des röhrenförmigen Behälters durch Sprühbeschichten aufgebracht und abgelagert ist, ein Verfahren zur Herstellung des Blutentnahmeröhrchen, eine Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren, die Verwendung der Suspension, sowie ein Verfahren zur Herstellung der Suspension.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Blutentnahmeröhrchen umfassend einen röhrenförmigen Behälter mit einer Öffnung an einem Ende und einem Boden am anderen Ende, der dem einen Ende gegenüber liegt, und eine Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren, einem Verfahren zur Herstellung des Blutentnahmeröhrchens sowie eine Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren und einem Verfahren zur Herstellung der Suspension.

[0002] Die vorliegende Erfindung betrifft einen Blutentnahmeröhrchen für Anwendungen wie klinische Untersuchungen, einschließlich biochemischer und immunologischer Serumanalysen.

[0003] Bluttests sind häufig durchgeführte Tests zur Vorbeugung oder Diagnose von Krankheiten. In den meisten Fällen werden Bluttests aus Blutserum durchgeführt. Serumröhrchen werden bei Bestimmungen für die klinische Chemie und Immunologie, Hormone, TDM und mikrobiologische Serologie verwendet.

[0004] Um Serum aus Blut für die Serumanalyse zu sammeln, sind Blutentnahmeröhrchen wie etwa Vakuum-Blutentnahmeröhrchen und Blutentnahmeröhrchen weit verbreitet.

[0005] Serum wird wie folgt gesammelt: Sammeln von Blut in einem Blutentnahmeröhrchen, gefolgt von Koagulation der gesammelten Blutprobe; und Zentrifugieren der Blutprobe, um Serum und Gerinnsel gemäß dem spezifischen Gewicht zu trennen.

[0006] Herkömmliche Blutentnahmeröhrchen zum Sammeln von Blut bestehen aus Glas oder einem Kunstharz wie Polystyrol, Polymethylmethacrylat, Polyethylen oder Polyethylenterephthalat.

[0007] Blutentnahmeröhrchen aus Glas lassen Blut in vergleichsweise kurzer Zeit gerinnen, benötigen aber dennoch etwa 40 bis 60 Minuten zur Blutgerinnung. Im Gegensatz dazu benötigen aus Kunstharz hergestellte Röhrchen für Bluttests vier Stunden oder mehr für die Blutgerinnung. Um die für die Blutgerinnung erforderliche Zeit weiter zu reduzieren, wurden blutgerinnungsfördernde Mittel zur Förderung der Blutgerinnung verwendet.

[0008] Die Blutgerinnung wird bekanntermaßen mit der Aktivierung des Blutgerinnungsfaktors XII eingeleitet und durch die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin durch eine Vielzahl von Reaktionen vervollständigt und hat eine Vielzahl komplexer Wege.

[0009] Es ist bekannt Thrombin oder ein Schlangengiftenzym zum Fördern der Umwandlungsreaktion von Fibrinogen zu Fibrin im Endstadium der Blutgerinnung als blutgerinnungsförderndes Mittel zur Förderung der Blutgerinnung zu verwenden. Die Verwendung eines solchen enzymatischen Mittels als Mittel zur Förderung der Blutgerinnung ermöglicht es dem Blut, innerhalb von Minuten zu gerinnen.

[0010] Die JP2002323488A beschreibt die Bereitstellung eines Blutgerinnungsbeschleunigers, der eine überlegene Stabilität aufweist und in der Lage ist, Blut und sogar heparinhaltiges Blut in kurzer Zeit zu koagulieren, und eines Röhrchens für Bluttests, der nicht nur für normale Bluttests, sondern auch verwendet werden kann zur Trennung und Gewinnung eines Blutserums bei Blutuntersuchungen von Dialysepatienten und Thrombosepatienten, denen Heparin verabreicht wird, zufriedenstellend. Der Blutgerinnungsbeschleuniger enthält eine Hydrolase, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arg und einem beliebigen Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lys und einem beliebigen Aminosäurerest in einer Peptidkette zu hydrolysieren. Außerdem enthält ein Blutgerinnungsbeschleuniger eine organische Verbindung mit Aminsatz und/oder quaternärem Stickstoff.

[0011] Die EP2320208A1 stellt einen Blutentnahmeröhrchen bereit, das in der Lage ist, Blut in kurzer Zeit koagulieren zu lassen und Blut daran zu hindern, mit darin enthaltenen Blasen zu koagulieren und somit die Bildung von blasenhältigen Gerinnseln zu verhindern. Der Blutentnahmebehälter, umfasst ein Blutgerinnungs-Fördermittel; Polyoxyalkylen als Antischaummittel, in einer Menge von $2,0 \times 10^{-3}$ bis 0,2 mg pro mL zu sammelndem Blut, wobei das Blutgerinnungs-Fördermittel und das Antischaummittel so im Blutentnahmebehälter angebracht sind, dass ein bodenseitiges Ende des Blutgerinnungs-Fördermittels (A) sich näher dem Öffnungsende befindet als ein bodenseitiges Ende des Antischaummittels.

[0012] Die US6686204B2 beschreibt ein Blutentnahmeröhrchen mit einer inneren Oberfläche mit einer Beschichtung, wobei die Beschichtung eine erste Überzugsschicht, die einen intrinsischen Gerinnungsaktivator umfasst, der auf die Innenfläche oder auf eine über der Innenfläche angeordnete Grundbeschichtung aufgebracht ist; und eine zweite Überzugsschicht, die einen extrinsischen Gerinnungsaktivator umfasst, der auf die erste Überzugsschicht aufgebracht ist.

[0013] Bei auf den Markt befindlichen Schnellgerinnungsröhrchen, wie z.B. Vacuette® Serum Fast Röhrchen, beträgt die Gerinnungszeit probandenabhängig weniger als fünf Minuten.

[0014] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, die Nachteile des Standes der Technik zu überwinden und eine Vorrichtung und eine Zusammensetzung sowie Verfahren zu deren Herstellung zur Verfügung zu stellen, wo trotz rascher Gerinnung des Bluts gleichzeitig die Serumqualität verbessert wird und das Serum für weiterfolgende Analysen geeignet ist.

[0015] Die Aufgabe der Erfindung wird jeweils eigenständig durch ein Blutentnahmeröhrchen und einem Verfahren zur Herstellung der Blutentnahmeröhrchens sowie einer Suspension und einem Verfahren zur Herstellung der Suspension gemäß den Ansprüchen gelöst.

[0016] Das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen umfasst einen röhrenförmigen Behälter mit einer Öffnung an einem Ende und einem Boden am anderen Ende, der dem einen Ende gegenüber liegt, und eine Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren, wobei die Suspension im Wesentlichen auf einer gesamten Innenoberfläche des röhrenförmigen Behälters durch Sprühbeschichten aufgebracht und abgelagert ist.

[0017] Zeit ist ein wichtiger Faktor, wenn es um exakte und rasche Testergebnisse für die Versorgung von Patienten geht. Durch einen raschen Ablauf der Blutgerinnung nach der Blutentnahme können entscheidende Minuten gewonnen werden.

[0018] Das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen verbindet die Schnelligkeit eines Plasmaröhrchens mit den Vorteilen von Serum. Es lässt die Gerinnung in der Vollblutprobe in nur fünf Minuten vollständig ablaufen und verkürzt somit den präanalytischen Prozess um ein Vielfaches. Eine gezielte Behandlung kann dadurch schneller eingeleitet werden.

[0019] Bei der vorliegenden Erfindung wird die Suspension mit der Hydrolase vorzugsweise durch Sprühbeschichtung auf die Innenoberfläche des Blutentnahmeröhrchens aufgetragen und liegt somit als Additiv auf der Innenwand des Blutentnahmeröhrchens vor. Durch das Sprühbeschichten ist ein gleichmäßiges Aufbringen der Suspension auf die annähernd gesamte Oberfläche der Innenwand des Blutentnahmeröhrchens möglich. Wo der Blutgerinnungsaktivator durch Sprühbeschichtung aufgebracht wird, koaguliert gesammeltes Blut unmittelbar nach Kontakt mit dem Blutgerinnungsaktivator. Die Anordnung auf im Wesentlichen der gesamten Innenfläche des Blutentnahmeröhrchens begünstigt die Gewinnung von hochwertigem Serum, wodurch schnellere Durchlaufzeiten im Labor erzielt werden können, weil die Qualität der gewonnenen Serumprobe optimiert ist indem beispielsweise weniger zelluläre Bestandteile des Bluts im Serum enthalten sind und gewonnenes Serum annähernd zellfrei und ohne Hämoglobin ist.

[0020] Es werden somit stabilere und besser analysierbare Proben gewonnen und stehen für die weitere Analyse zur Verfügung.

[0021] Somit kann das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen als Schnellgerinnungsröhrchen in Notfallambulanzen sowie in Privatlaboren angewendet werden und minimiert die Turn-around-time.

[0022] Bei einer Zentrifugationszeit von fünf Minuten beträgt die Zeit von der Blutentnahme bis zur Analyse 10 Minuten anstelle von 40 Minuten wie bei herkömmlichen aus dem Stand der Technik bekannten Serumröhrchen. Die Turn-Around-Time (TAT, Durchlaufzeit) kann effektiv um 30 Minuten pro Probe reduziert werden.

[0023] Auch die Bildung von Blutschwämmen (Erythrozyten-Clots) durch zu schnelle Gerinnung wird durch das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen minimiert. Dementsprechend ist es möglich, eine Kontamination von roten Blutkörperchen im Serum während der Zentrifugation zu verhindern.

[0024] Von Vorteil erweist sich, dass die Menge des Blutgerinnungsaktivators 6,0 Units bis 14 Units pro mL zu sammelndem Blut, insbesondere 7,3 Units bis 13,7 Units pro mL zu sammelndem Blut, im Blutentnahmeröhrchen beträgt.

[0025] Durch die im Blutentnahmeröhrchen enthaltene Menge des Blutgerinnungsaktivators kommt es zu einer rascheren Gerinnung der Vollblutprobe und zu einer Verbesserung der Probenqualität bei gleichzeitig verbesserten wirtschaftlichen Aspekten.

[0026] Die Gerinnung des abgenommenen Bluts erfolgt innerhalb von fünf Minuten vollständig. Durch die schnelle Gerinnung ermöglichen erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen potenziell Zeitgewinne in Form von reduzierten Durchlaufzeiten und umgehen die Verwendung von Plasmaproben, um Leistungsverbesserungen zu erzielen. Die schnell gerinnenden Blutgerinnungsröhrchen können auch das Problem der kurzen Durchlaufzeiten für viele Gesundheitseinrichtungen, die auf die Verwendung von Plasma anstelle von Serum umgestellt haben, lösen.

[0027] Eine nicht zu schnell aber auch eine nicht zu langsam ablaufende Gerinnung des Probandenbluts erfolgt vollständig und stabiler und bringt somit in Bezug auf Serumausbeute und Serumreinheit Vorteile, wodurch auch Anwenderprobleme bezüglich automatisierter Verarbeitung und Auswertung von Serumproben gelöst werden können.

[0028] Zudem kann die Produkthaltbarkeit im Vergleich zu bisherigen Schnellgerinnungsprodukten mit dem erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen von bisher 12 Monaten auf 15 Monate verlängert werden.

[0029] In der Suspension sind vorzugsweise 0,5 Gew-% bis 1,7 Gew-% des Blutgerinnungsaktivators enthalten sind, welche zu einer Aktivität von 1,9 U/mg in der Suspension führen, wodurch eine ausreichende Menge an Blutgerinnungsaktivator für eine vollständige Gerinnung von Vollblut innerhalb von fünf Minuten selbst nach Ende des Herstellungs- und Lagerungsprozesses des Blutentnahmeröhrchens gewährleistet ist.

[0030] Als Hydrolase kann eine Serinprotease, insbesondere Thrombin, in der auf die Innenwand des Blutentnahmeröhrchens aufgesprühte Suspension enthalten sein.

[0031] In der vorliegenden Erfindung ist der im Blutentnahmeröhrchen enthaltene Blutgerinnungsaktivator eine Serinprotease. Die Serinprotease verbessert die Gerinnungseffizienz von Blut weiter.

[0032] Im Gegensatz zu herkömmlichen Serumröhrchen enthält das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen zusätzlich Thrombin, um den Gerinnungsprozess zu beschleunigen. Durch Thrombin als Gerinnungsaktivator wird die Bildung eines klaren, fibrinfreien Serums und eine Gerinnungszeit von weniger als fünf Minuten begünstigt.

[0033] In der vorliegenden Erfindung kann die Suspension zumindest einen weiteren Gerinnungsaktivator, insbesondere Siliziumdioxidpartikel, enthalten.

[0034] Die Innenwand des Blutentnahmeröhrchens ist durch die aufgebrachte Suspension mit mikroskopisch kleinen Siliziumdioxidpartikeln beschichtet. Sie aktivieren die Gerinnung zusätz-

lich, unter anderem wenn das Blutentnahmeröhrchen vorsichtig gewendet werden.

[0035] Die Gerinnung im mit der Suspension beschichteten Blutentnahmeröhrchen, insbesondere Serumröhrchen, wird durch die Additivmischung aus Gerinnungsaktivator und Thrombin zudem beschleunigt.

[0036] Durch die adsorbierenden Eigenschaften der Siliziumdioxidpartikel koaguliert das Blut unmittelbar nach Kontakt mit der sprühgetrockneten Schicht der Suspension enthaltend die Blutgerinnungsaktivatoren. Vorteilhafterweise wird dadurch eine gleichmäßigere Koagulation des Bluts in kurzer Zeit erreicht und die Gewinnung eines qualitativ hochwertigen Serums wird ermöglicht.

[0037] Zudem können die Siliziumdioxidpartikel der Bildung von Luftblasen und Schaum entgegenwirken.

[0038] Vorzugsweise sind in der Suspension 0,5 Gew.-% bis 7 Gew.-%, insbesondere 1 Gew.-% bis 3 Gew.-%, vorzugsweise 1,5 Gew.-% bis 2 Gew.-% Siliziumdioxidpartikel enthalten. Eine Konzentration von <0,5 Gew.-% Siliziumdioxidpartikeln in der Suspension lässt die Gerinnungszeit deutlich ansteigen. Durch die erfindungsgemäße Menge wird ein Optimum der Gerinnungszeit des Vollbluts erreicht.

[0039] Die Suspension kann weiters zumindest ein Silikonöl, vorzugsweise ein wasserlösliches Silikonöl, zur Verbesserung der Gleitfähigkeit an der Röhrcheninnenwand, enthalten.

[0040] Das Silikonöl ist vorzugsweise in einer Menge von 0,05 Gew.-% bis 2 Gew.-%, insbesondere 0,1 Gew.-% bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,2 Gew.-% bis 0,4 Gew.-% in der Suspension enthalten. Durch die ausgewählte Menge an Silikonöl wird die Röhrcheninnenwand geschmiert, damit kein Blutkuchen und/oder das Trenngel beim Zentrifugieren haften bleibt.

[0041] Von Vorteil erweist sich zudem, dass in der Suspension ein Konservierungsmittel, insbesondere ein Paraben, insbesondere Propyl-4-hydroxybenzoat, in einer Menge von 0,001 Gew.-% bis 1 Gew.-%, insbesondere 0,05 Gew.-% bis 0,1 Gew.-%, vorzugsweise 0,01 Gew.-% bis 0,03 Gew.-% in der Suspension enthalten ist.

[0042] Propyl-4-hydroxybenzoat (Propylparaben) ist ein Konservierungsmittel aus der Gruppe der Parabene mit antimikrobiellen Eigenschaften, das für die Konservierung der Suspension verwendet wird. Es kann mit anderen Konservierungsmitteln, wie z.B. Methylparaben kombiniert werden.

[0043] In der Suspension kann zudem ein wasserlösliches Bindemittel, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxalkylen-Blockcopolymeren, enthalten sein.

[0044] Das wasserlösliche Bindemittel ermöglicht, dass sich der Blutgerinnungsaktivator gleichmäßig an der Innenfläche des Blutentnahmebehälters anlagert und verhindert zugleich, dass sich der Blutgerinnungsaktivator von der Innenfläche des Blutentnahmebehälters ablöst. Bei der Blutabnahme fließt Blut in das Blutentnahmeröhrchen und kommt dann mit dem wasserlöslichen Bindemittel in Kontakt und wird damit vermischt. Unmittelbar nach dem Kontakt löst sich das wasserlösliche Bindemittel im Blut auf und ermöglicht eine gleichmäßige Verteilung des Blutgerinnungsaktivators im Blut.

[0045] Vorzugsweise wird das wasserlösliche Bindemittel, insbesondere Polyvinylpyrrolidon, in einer Menge von 0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, insbesondere 0,5 Gew.-% bis 4 Gew.-%, vorzugsweise 1,5 Gew.-% bis 3,5 Gew.-% verwendet. Die Verwendung von Polyvinylpyrrolidon in der ausgewählten Menge verhindert wirksamer, dass sich der Blutgerinnungsaktivator von der Innenfläche des Blutentnahmeröhrchens vorzeitig ablöst und erleichtert das Resuspendieren der Siliziumdioxidpartikel bei Blutkontakt und somit das Ablösen von der Blutentnahmeröhrchenwand.

[0046] Der pH-Wert der Suspension liegt vorzugsweise in einem Bereich mit einer unteren Grenze von 4,0 und einer oberen Grenze 8,5, vorzugsweise zwischen 5,5 und 8,0, insbesondere zwischen 6,5 bis 7,5. Die Einstellung des pH-Werts der Suspension erfolgt durch eine Säure oder Base. Vorzugsweise ist als Base Lithiumhydroxid Monohydrat in der Suspension in einer Menge

von 0,0001 Gew.-% bis 0,01 Gew.-%, insbesondere 0,0005 Gew.-% bis 0,007 Gew.-%, vorzugsweise 0,002 Gew.-% bis 0,005 Gew.-% enthalten, weil dadurch der natürliche pH-Wert im Blut möglichst nicht durch die eingesprühete Suspension im Blutentnahmeröhrchen verändert wird.

[0047] Im Blutentnahmeröhrchen kann am Ende des Röhrchens mit der Öffnung abdichtend ein Stopfen befestigt sein, wodurch das Blutentnahmeröhrchen verschließbar ist.

[0048] Von Vorteil erweist sich zudem, dass im Inneren des Blutentnahmeröhrchens ein reduzierter Druck vorliegt. Durch den Unterdruck ist es möglich eine vorbestimmte Blutmenge zu sammeln. Zudem gelangt durch den Unterdruck im Blutentnahmeröhrchen das Blut bei der Abnahme vom Probanden bzw. Patienten direkt zum Boden des Blutentnahmeröhrchens. Nachdem die Suspension mit dem Blutgerinnungsaktivator annähernd gleichmäßig an der Röhrcheninnenwand angeordnet ist und somit auch im Bereich des Bodens, kommt es unmittelbar nach der Blutabnahme direkt zum Start der Koagulation des Bluts durch die sprühgetrocknete Suspension im Bereich des Bodens. Bei steigender Füllmenge gelangt das entnommene Blut auch in Kontakt mit der sprühgetrockneten Suspension an der Seiteninnenwand des Röhrchens.

[0049] In einer Weiterbildung des Blutentnahmeröhrchens ist vorgesehen, dass ein Trenngel im Bereich des Bodens des Blutentnahmeröhrchens angeordnet ist. Das Trenngel ist ein inertes Gelmaterial im Blutentnahmeröhrchen. Dieses Gel hat eine kontrollierte Viskosität und ein spezifisches Gewicht, das zwischen dem des Serums und des Blutgerinnsels liegt. Während der Zentrifugation bildet das Gelmaterial eine undurchlässige und stabile Barriere zwischen Serum und den festen Bestandteilen des Bluts und lässt keine Durchmischungen des Serums mit dem Blutgerinnsel zu. Die Gelbarriere vereinfacht auch die weitere Verarbeitung der Serumprobe.

[0050] Während des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Herstellung eines Blutentnahmeröhrchens wird die Suspension in einer Menge von 4,5 mg/mL bis 9 mg/mL Blut, vorzugsweise 5 mg/mL bis 8 mg/mL Blut, insbesondere 5,5 mg/mL bis 7,5 mg/mL Blut, insbesondere zu entnehmendem Blut, in das Blutentnahmeröhrchen eingesprüht. Dadurch ist gewährleistet, dass eine ausreichende Menge des Blutgerinnungsaktivators vorliegt und die Blutgerinnung rasch erfolgen kann, um möglichst schnell Serum zu erhalten, das einer weiterführenden Analyse zugeführt werden kann und somit lebenswichtige Parameter für die Entscheidung der weiteren Behandlung eines Patienten zur Verfügung stehen.

[0051] Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung wird auch eigenständig durch eine Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator gelöst, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren, und zumindest einem weiteren Gerinnungsaktivator, vorzugsweise Siliziumdioxidpartikel, zumindest einem wasserlöslichen Bindemittel ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren, zumindest einem Konservierungsmittel, vorzugsweise ein Paraben, insbesondere Propyl-4-hydroxybenzoat, zumindest einem Silikonöl, insbesondere wasserlöslichem Silikonöl, und einem Mittel zum Einstellen des pH-Werts, insbesondere Lithiumhydroxid Monohydrat. Durch die erfindungsgemäße Zusammensetzung der Suspension, welche vorzugsweise in einem Blutentnahmeröhrchen enthalten ist, wobei die Suspension vorzugsweise eingesprüht und anschließend getrocknet wird, kann qualitativ hochwertiges Serum, welches klar und annähernd zellfrei ist, gewonnen werden.

[0052] Die Aufgabe der Erfindung wird auch durch ein Verfahren zur Herstellung einer Suspension umfassend die Schritte, gelöst: (i) Lösen der wasserlöslichen Bestandteile: zumindest ein wasserlösliches Bindemittel, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren, zumindest ein Silikonöl, vorzugsweise ein wasserlösliches Silikonöl, und zumindest ein Konservierungsmittel, insbesondere ein Paraben, vorzugsweise Propyl-4-hydroxybenzoat, in einem wässrigen Medium, (ii) Einstellen des pH-Werts mit einer Säure oder Base, vorzugsweise Lithiumhydroxid Monohydrat, (iii) Sterilfiltration der Lösung, (iv) Einrühren zumindest eines heißsterilisierten Gerinnungsaktivators auf Siliziumdioxidbasis und (v) gegebenenfalls Sterilabfüllung der Suspension (vi) Hinzufügen eines Blutgerinnungsaktivators, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage

ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren mit einer Zielkonzentration von 1 U/mg bis 3 U/mg, vorzugsweise 1,5 U/mg bis 2,5 U/mg, insbesondere 1,7 U/mg bis 2,1 U/mg.

[0053] Die Wiederfindung von Thrombin im ausgewählten Zielkonzentrationsbereich von 1 U/mg bis 3 U/mg, vorzugsweise 1,5 U/mg bis 2,5 U/mg, insbesondere 1,7 U/mg bis 2,1 U/mg Suspension zu zwei unterschiedlich gemessenen Zeitpunkten, initial und nach 5 Stunden Lagerung, im Blutentnahmeröhrchen zeigt in der Zusammensetzung der Suspension eine weitgehende Matrixunabhängigkeit. Werden geringere Thrombinkonzentrationen unter Anwesenheit von kristallinen Partikeln eingesetzt fällt die Thrombinwiederfindungsrate ab.

[0054] Im Sinne der Erfindung wird die Bezeichnung Koagulation und Gerinnung gleichwertig verwendet.

[0055] Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist ein Blutentnahmeröhrchen, mit welchem Serum gewonnen werden kann. Serumröhrchen werden bei Bestimmungen für die klinische Chemie und Immunologie, Hormone, TDM und mikrobiologische Serologie verwendet.

[0056] Das Blutentnahmeröhrchen zur Abnahme von Blut umfasst einen röhrenförmigen Behälter mit einer der im Blutentnahmeröhrchen enthaltenden Probe zugewandten Innenwand mit einer Innenoberfläche. Der röhrenförmige Behälter weist eine Öffnung an einem Ende und einen Boden am anderen Ende, der dem einen Ende gegenüber liegt, auf. An bzw. in dieser Öffnung ist vorzugsweise ein Verschlusselement angeordnet, welches den röhrenförmigen Behälter abdichtend verschließt.

[0057] Im Blutentnahmeröhrchen ist eine Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren, enthalten.

[0058] Die Suspension ist im Wesentlichen auf der gesamten Innenoberfläche des röhrenförmigen Behälters durch Sprühbeschichten aufgebracht und abgelagert. Diese Anordnung ermöglicht die Gewinnung von zellfreiem Serum ohne Hämoglobin.

[0059] Der Blutgerinnungsaktivator der Suspension ist ein blutgerinnungsförderndes Mittel. Es handelt sich um eine Hydrolase, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und einem beliebigen Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und einem beliebigen Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren.

[0060] Beispiele für die Hydrolasen sind Serinproteasen wie Trypsin, Thrombin und Schlangengiftthrombin-ähnliches Enzym, Thiolproteasen wie Cathepsin B und Ficin; und Hydrolasen wie Metalloproteasen einschließlich Kininase I.

[0061] Der Blutgerinnungsaktivator im erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen ist vorzugsweise eine Serinprotease, wobei Thrombin unter den Serinproteasen vorzuziehen ist, weil es die Gerinnungsrate von Blut verbessert.

[0062] Für die Herstellung des erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen wird technical Grade Thrombin verwendet um die gewünschte Probenqualität sowie Produktperformance zu erzielen.

[0063] Es wird angenommen, dass ein Teil von Thrombin mit den verfügbaren kristallinen Silikaten reagiert und so inaktiviert wird. Die Anwesenheit von Siliziumdioxidpartikeln und geringen Konzentrationen an Thrombin in der Suspension scheint einen signifikanten Teil der Thrombinaktivität zu blockieren. Es muss daher die Thrombinkonzentration so gewählt werden, dass noch eine ausreichende Menge zur Gerinnungsaktivierung zur Verfügung steht.

[0064] Um dennoch die erforderliche Gerinnungsaktivität im Blutentnahmeröhrchen zu erzielen ist daher eine ausreichende Menge an Thrombin sowie die erfindungsgemäße Zusammensetzung der Additivmatrix für die erfindungsgemäße Suspension notwendig.

[0065] Der Aktivitätskorridor, der einerseits eine Gerinnung innerhalb von fünf Minuten gewährleistet aber andererseits eine zu schnelle Gerinnung und eine damit einhergehende Gefahr der Bildung von Blutschwämmen vermeidet, liegt im Bereich von 6 Units pro ml Blut und 14 Units, insbesondere 7,3 Units bis 13,7 Units pro ml Blut.

[0066] Eine zu schnelle Gerinnung ist auch für eine zellfreie Serumprobe ungünstig. Daher ist es wichtig, das Optimum an Thrombinmenge und auch der Zusammensetzung der Suspension, welche das Thrombin enthält, zu ermitteln, um einerseits eine ausreichende Gerinnungszeit innerhalb von fünf Minuten zu gewährleisten und andererseits beste Serumqualität zu erhalten.

[0067] Die Kombination aus schneller Gerinnung und zugleich zellfreiem Serum und wenig freiem Hämoglobin im Serum wird so erreicht, dass Thrombin in einer Menge von 6 Units bis 14 Units pro mL zu sammelndem Blut, insbesondere 7,3 Units bis 13,7 Units pro mL zu sammelndem Blut im Blutentnahmeröhrchen enthalten ist.

[0068] Um dies zu erreichen sind in der Suspension 0,5 Gew-% bis 1,7 Gew-% des Blutgerinnungsaktivators enthalten, welche zu einer Aktivität von 1,9 U/mg in der Suspension führen.

[0069] Das Verschlusselement kann entweder in Form einer Verschlusskappe, eines Stopfens oder einer Kombination daraus ausgebildet sein. Vorzugsweise verschließt das Verschlusselement das Röhrchen sowohl flüssigkeits- als auch luftdicht. Mögliche Ausbildungsformen eines Verschlusselements sind aus dem Stand der Technik bekannt und beispielsweise in der EP445707B1, EP419490B1, US5275299A, US5495958A sowie US5522518A beschrieben.

[0070] Das Material und die Form des Stopfens sind so gewählt, dass der Stopfen flüssigkeits- und gasdicht an der Öffnung des rohrförmigen Behälters befestigt werden kann. Der Stopfen ist vorzugsweise so gestaltet, dass er von einer Blutentnahmenadel durchstoßen werden kann. Bei dem Stopfen kann es sich beispielsweise um einen Gummistopfen handeln, der so geformt ist, dass er in die Öffnung des Blutentnahmeröhrchens passt. Dessen Außenfläche kann mit einem Kunststoff oder dergleichen beschichtet sein. Beispiele für das Material des Stopfens sind Kautschuke wie Kunstharze, Elastomere, Butylkautschuk und halogenierte Butylkautschuke. Unter diesen ist Butylkautschuk wegen seiner Fähigkeit die Dichtungseigenschaften zu verbessern zu bevorzugen.

[0071] Beispiele für das Material des röhrenförmigen Behälters sind aus der Gruppe von Polyethylenterephthalat (PET), Polyethylen (PE), Polypropylen (PP), Polystyrol (PS), Polycarbonat (PC), High-Density-Polyethylen (PE-HD), Acrylnitril-Butadien-Styrol-Copolymere (ABS), Polyamid (PA) bzw. einer Kombination daraus gewählt.

[0072] Bevorzugt wird ein Kunststoff bzw. mehrere Kunststoffe gewählt, welcher flüssigkeitsdicht, insbesondere wasserdicht, sowie annähernd gasdicht ist. Das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen ist aus nahezu unzerbrechlichem PET hergestellt. Es bietet verbesserte Sicherheit und Hygiene bei der Probenentnahme mit dem Vorteil, dass es glasklar ist.

[0073] Die Suspension ist im Blutentnahmeröhrchen in Form einer Beschichtung, die auf die Innenwand des Blutentnahmeröhrchens aufgebracht, insbesondere eingesprüht und abgelagert ist, enthalten.

[0074] Durch das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen wird die Bereitstellung eines klaren Serums nach der Zentrifugation ermöglicht, weil der schnelle Gerinnungsprozess innerhalb von fünf Minuten auf Basis der im Blutentnahmeröhrchen enthaltenen Suspension mit einem Blutgerinnungsaktivator, insbesondere Thrombin, unter anderem die Zelllyse im Blutentnahmeröhrchen minimiert. Die Verwendung des erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchens führt somit auch zu schnelleren Durchlaufzeiten im Labor, weil die Qualität des Serums eine rasche und vielseitige weitere Analyse ermöglicht.

[0075] Die Sprühbeschichtung erfolgt annähernd auf der gesamten Oberfläche der Innenwand des Blutentnahmeröhrchens. Diese umfasst den Röhrchenboden und die Röhrcheninnenwand. Die Beschichtung ist im Bereich, wo das Verschlusselement in Kontakt mit der Innenoberfläche der Röhrcheninnenwand, nicht angeordnet. Dieser Bereich entspricht bei einem 5 ml Blutentnah-

meröhrchen etwa 10 mm unterhalb des Röhrchenhalses. Auch das Verschlusselement, insbesondere der Stopfen wird nicht beschichtet, weil sich hier nicht mehr abzentrifugierbare Blutverklumpungen bilden können, wenn der Stopfen nicht perfekt silikonisiert ist.

[0076] Eine zu geringe Menge des Blutgerinnungsaktivators kann zu einer unzureichenden Gerinnung führen, und eine zu große Menge kann nachfolgende analytische Testergebnisse nachteilig beeinflussen. Die Menge des Blutgerinnungsaktivators im Blutentnahmebehälter beträgt daher vorzugsweise 6 Units bis 14 Units pro mL zu sammelndem Blut, insbesondere 7,3 Units bis 13,7 Units pro mL zu sammelndem Blut, im erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen.

[0077] Im Blutentnahmeröhrchen ist zumindest ein weiterer Gerinnungsaktivator enthalten. Der weitere Gerinnungsaktivator in der Suspension ist vorzugsweise eine adsorbierende Substanz.

[0078] Beispiele für die adsorbierende Substanz sind Kieselerde, insbesondere Silikatpartikel, Gläser, Kaolin, Celit und Bentonit. Da diese adsorbierenden anorganischen Substanzen eine große spezifische Oberfläche haben, ermöglicht die Verwendung einer solchen adsorbierenden anorganischen Substanz als blutgerinnungsförderndes Mittel eine gleichmäßigere Gerinnung des Blutes in kürzerer Zeit, da das Blut mit der adsorbierenden anorganischen Substanz in Kontakt kommen kann.

[0079] Dieser zumindest eine weitere Gerinnungsaktivator ist vorzugsweise Siliziumdioxid, das in mikroskopisch feinen Partikeln in der zur Sprühtrocknung vorgesehenen Suspension enthalten ist. Die Pulverform der Siliziumdioxidpartikel weist eine größere spezifische Oberfläche auf, was eine noch gleichmäßigere Gerinnung des Blutes in noch kürzerer Zeit ermöglicht.

[0080] Durch das Vorliegen des weiteren Gerinnungsaktivators in der Suspension muss dieser nicht in einem separaten Schritt auf die Röhrcheninnenwand aufgebracht werden.

[0081] Der zweite Gerinnungsaktivator auf Siliziumdioxidbasis hat bei bestimmungsgemäßer Lagerung und Gebrauch kaum eine Wirkung auf die Schnellgerinnung. Es wirkt vorwiegend das Thrombin, um die Schnellgerinnung auszulösen. Aber der zweite Gerinnungsaktivator auf Siliziumdioxidbasis wirkt als Backup, falls durch unsachgemäße Lagerung, beispielsweise zu warm und/oder unter permanenter Sonnenbestrahlung das Thrombin degradiert und unwirksam wird. Die Menge des weiteren Gerinnungsaktivators, insbesondere von Siliziumdioxidpartikel, in der zur Sprühbeschichtung vorgesehenen Suspension beträgt 0,5 Gew.-% bis 7 Gew.-%, insbesondere 1 Gew.-% bis 3 Gew.-%, vorzugsweise 1,5 Gew.-% bis 2 Gew.-%. Die erfindungsgemäße Menge der SiO₂ Partikel stellt sicher, dass sich diese nach der Zentrifugation am Röhrchenboden befinden.

[0082] Eine zu große Menge des weiteren Gerinnungsaktivators in der Suspension, welche auf die Blutentnahmeröhrcheninnenwand aufgebracht wird, kann in weiterer Folge zu Rückständen unlöslicher Substanzen im aus dem Blut gewonnenen Serum führen, die die Entstehung von Hämolysen begünstigen. Dies ist bei einer automatisierten Verarbeitung der Serumproben umso wichtiger.

[0083] Vorzugsweise werden für das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen drei kristalline Komponenten von Siliziumdioxidpartikeln verwendet, insbesondere Feldspat, Silica und Diatomit. Aber es ist auch möglich mit nur einer Siliziumdioxidpartikelquelle das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen auszustatten.

[0084] Durch mehrmaliges Wenden des erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchens kann die Gerinnung zusätzlich aktiviert werden und noch gleichmäßiger ablaufen.

[0085] Als ein Agens zur Verbesserung der Gleitfähigkeit des Trenngels bzw. des Blutkuchens an der Röhrcheninnenwand kann zumindest ein Silikonöl, vorzugsweise ein wasserlösliches Silikonöl, verwendet werden. Es können aber auch zwei oder mehrere Silikonöle in Kombination verwendet werden.

[0086] Silikonöl ist in einer Menge von 0,05 Gew.-% bis 2 Gew.-%, insbesondere 0,1 Gew.-% bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,2 Gew.-% bis 0,4 Gew.-% in der Suspension enthalten. Eine zu ge-

ringe Menge des Silikonöls kann keine ausreichende Gleitfähigkeit des Trenngels und Schmierens der Röhrcheninnenwand erzielen.

[0087] Zur Stabilisierung und besseren Haltbarkeit der Suspension ist ein Konservierungsmittel, insbesondere ein Paraben, vorzugsweise Propyl-4-hydroxybenzoat, in der Suspension enthalten. Um eine optimale konservierende Wirkung zu erreichen aber dennoch die Wirksamkeit des Blutgerinnungsaktivators in der Suspension nicht negativ zu beeinflussen, ist das Konservierungsmittel, insbesondere Propyl-4-hydroxybenzoat, in einer Menge von 0,001 Gew.-% bis 1 Gew.-%, insbesondere 0,05 Gew.-% bis 0,1 Gew.-%, vorzugsweise 0,01 Gew.-% bis 0,03 Gew.-% in der Suspension enthalten. Die Suspension des Blutentnahmeröhrchens enthält vorzugsweise ein wasserlösliches Bindemittel. Die Verwendung des wasserlöslichen Bindemittels ermöglicht eine gleichmäßigere Anhaftung des Blutgerinnungsaktivators an der Innenfläche des Blutentnahmeröhrchens und verhindert, dass sich der Blutgerinnungsaktivator von der Innenfläche des Blutentnahmeröhrchens ablöst. Das Blut fließt in das Blutentnahmeröhrchen, kommt mit dem wasserlöslichen Bindemittel der an der Innenwand des Blutentnahmeröhrchens angeordneten und getrockneten Suspension in Berührung und wird mit dieser vermischt. Unmittelbar nach dem Kontakt des Bluts mit der getrockneten Suspension werden die Komponenten gelöst und gleichmäßig im Blut dispergiert.

[0088] In der Suspension ist ein wasserlösliches Bindemittel, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren, enthalten. Als wasserlösliches Bindemittel kann auch eine Kombination der angeführten Verbindung verwendet werden, die nachfolgende Analysen aus dem Serum nicht beeinträchtigt.

[0089] Unter diesen ist Polyvinylpyrrolidon vorzuziehen, weil es wirksamer verhindert, dass sich der weitere Blutgerinnungsaktivator vorzeitig von der Innenfläche des Blutentnahmeröhrchens ablöst.

[0090] Zudem erleichtert das Polyvinylpyrrolidon das Resuspendieren und die Dispergierbarkeit der Siliziumdioxidpartikel und verhindert Ungleichmäßigkeiten in der Verteilung der Bestandteile der Suspension, die zu Schwierigkeiten beim Auftragen der Suspension durch Sprühbeschichtung führen können.

[0091] Eine zu geringe Menge an wasserlöslichem Bindemittel, insbesondere Polyvinylpyrrolidon, kann dazu führen, dass sich der Blutgerinnungsaktivator von der inneren Oberfläche des Blutentnahmeröhrchens ablöst oder dass Zellen hämolysieren, und eine zu große Menge kann zu einer Hemmung der Wirkung der Hydrolase und somit zu einer unzureichenden Löslichkeit im Blut führen, was möglicherweise Testergebnisse beeinträchtigt. Daher beträgt die Menge des wasserlöslichen Bindemittels der für die Sprühbeschichtung des Blutentnahmeröhrchens vorgesehenen Suspension vorzugsweise 0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, insbesondere 0,5 Gew.-% bis 4 Gew.-%, vorzugsweise 1,5 Gew.-% bis 3,5 Gew.-%.

[0092] Der pH-Wert der Suspension liegt in einem Bereich mit einer unteren Grenze von 4,0 und einer oberen Grenze 8,5, vorzugsweise zwischen 5,5 und 8,0, insbesondere zwischen 6,5 bis 7,5 und wird mit einer Säure oder Base eingestellt. Vorzugsweise ist in der Suspension als Base Lithiumhydroxid Monohydrat zur Einstellung des pH-Werts enthalten, weil durch die Verwendung von Lithiumhydroxid Monohydrat zur Einstellung der pH-Werts der Suspension der natürliche pH-Wert des Bluts nicht verändert wird.

[0093] Lithiumhydroxid Monohydrat ist in der Suspension in einer Menge von 0,0001 Gew.-% bis 0,01 Gew.-%, insbesondere 0,0005 Gew.-% bis 0,007 Gew.-%, vorzugsweise 0,002 Gew.-% bis 0,005 Gew.-%, enthalten.

[0094] Im Inneren des Blutentnahmeröhrchens herrscht vorzugsweise ein reduzierter Druck. Durch den Unterdruck im Blutentnahmeröhrchen kann es als Vakuumblutentnahmeröhre verwendet werden.

[0095] In einer Ausführungsform der Erfindung ist vorgesehen, dass ein Trenngel im Bereich des

Bodens des Blutentnahmeröhrchens angeordnet ist.

[0096] Das Seruntrennmittel ist eine thixotrope Substanz in Gelform und kann beispielsweise durch Zugabe von Additiven wie Thixotropievermittlern, wie z.B. Kondensationsprodukte von Sorbit und einem aromatischen Aldehyd sowie Polyoxyethylen/Polyoxyalkylen-Blockcopolymere, Mitteln zur Kontrolle der spezifischen Schwerkraft, oder Viskositätsmodifikatoren, z.B. Kieselsäure, zu einem Kunstharz, z. B. Oligomere von Dicyclopentadien, oder ähnlichem, das bei Raumtemperatur fließfähig ist, und durch Mischen hergestellt werden. Alternativ kann einem Harz, das bei Raumtemperatur fest ist, ein Weichmacher zugesetzt werden, um Fließfähigkeit zu erreichen, und dann können Additive wie Thixotropievermittler, Mittel zur Steuerung der spezifischen Schwerkraft, Kompatibilisierungsmittel, z.B. teilweise hydriertes Terphenyl, oder Viskositätsmodifikatoren, z.B. Phthalatester und Trimellithsäureester zugesetzt werden.

[0097] Die Gelbarriere vereinfacht die Verarbeitung der Probe. Das im Blutentnahmeröhrchen enthaltende Trenngel formt nach der Zentrifugation eine stabile Barriere zwischen Serum und den festen Bestandteilen des Bluts und bietet dadurch Stabilität für die meisten Analyten bis zu 24 Stunden bei Messung aus dem Primärröhrchen bei Lagerung bei Raumtemperatur und bei Lagerung bei 4°C bis 8°C für bis zu 48 Stunden.

[0098] Beim Verfahren zur Herstellung des erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchens wird die Suspension vorzugsweise in der Mindestmenge verwendet, die erforderlich ist, um die gewünschte Leistung zu erzielen.

[0099] Erfindungsgemäß wird die Suspension in einer Menge von 4,5 mg/mL bis 9 mg/mL Blut, vorzugsweise 5 mg/mL bis 8 mg/mL Blut, insbesondere 5,5 mg/mL bis 7,5 mg/mL Blut, in das Blutentnahmeröhrchen eingesprüht.

[00100] Die Zielkonzentration für die Sprühsuspension beträgt 1,9 Units/mg Suspension. Weiters beträgt die Zielkonzentration für Thrombin pro mL Blut 6 Units bis 14 Units/mL Blut. Um Verluste bei der Lagerung und im weiteren Herstellungsprozess zu kompensieren, wird beim Sprühprozess vorzugsweise eine Menge an der Obergrenze dieser Toleranz, also in einem Bereich 11 Units bis 14 Units/mL Blut eingesprüht. Somit ist im Zuge der Produktlebensdauer von 12 Monaten noch Toleranz für einen Thrombinabbau, z.B. durch UV-Strahlung oder Temperatureinwirkung, gegeben. Daraus ergibt sich, dass pro mL Blutprobe folgende minimal/maximal Mengen an Suspension versprüht werden:

- Min: $11,0 \text{ U/mL Blut} / 1,9 \text{ U/mg} = 5,8 \text{ mg/mL Blut}$
- Max: $14,0 \text{ U/mL Blut} / 1,9 \text{ U/mg} = 7,4 \text{ mg/mL Blut}$

[00101] Für ein 3,5 mL Blutentnahmeröhrchen werden also beispielsweise folgende Suspensionsmengen versprüht:

Minimal: $5,8 \text{ mg/mL} \times 3,5 \text{ mL} = 20,3 \text{ mg}$

Maximal: $7,4 \text{ mg/mL} \times 3,5 \text{ mL} = 25,9 \text{ mg}$

[00102] Für die Trocknung der eingesprühten Suspension in das Blutentnahmeröhrchen kann ein Standardtrocknungsprozess oder eine Vakuumtrocknungskammer verwendet werden. Zur Herstellung des erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchens wird eine Kombination aus Wärme und Vakuumtrocknung bevorzugt, weil hierbei die Enzymaktivität von Thrombin erhalten wird.

[00103] Um das Blutentnahmeröhrchen mit der Suspension zu sterilisieren, wird das Endprodukt, also das Röhrchen mit der darin auf der Innenwand des Röhrchens enthaltenen sprühgetrockneten Suspension bestrahlt. Als Bestrahlungsmethoden kann eine entweder eine Gamma-Bestrahlung, Elektronenbestrahlung oder X-Ray (Röntgenbestrahlung) durchgeführt werden.

[00104] Die Elektronenbestrahlung ist ein Sterilisationsprozess mittels ionischer Strahlung. Dabei werden Mikroorganismen und DNA-Fragmente innerhalb weniger Sekunden unwirksam gemacht. Die Sterilisation mittels Elektronenbestrahlung zeichnet sich durch ihre Wirtschaftlichkeit aus. Der Vorteil der Methode ist, dass sich das Verfahren besonders für empfindliche Werkstoffe

sehr gut eignet. Besonders thermolabile Gegenstände, wie z.B. das Enzym Thrombin, profitieren von dieser Methode, da die Elektronenbestrahlungsmethode Temperaturen von 20°C bevorzugt.

[00105] Zudem ist die benötigte Strahlendosis deutlich geringer als bei vergleichbaren Methoden, wie die Sterilisation mittels Gammastrahlen. Das zu sterilisierende Produkt geht rückstandslos aus dem Prozess heraus.

[00106] Die Gamma-Bestrahlung ist das häufigste Verfahren zur Sterilisation verschiedenster Verbrauchsmaterialien. Kleidung, aber auch Petrischalen oder Reinigungsstäbchen zur Probenentnahme werden mit sehr energiereichen, elektromagnetischen Wellen behandelt, um Keime zu eliminieren. Im Unterschied zu Alpha- oder Betastrahlung durchdringt die Gammastrahlung die meisten Materialien vollständig. Mit einer üblichen Strahlendosis von 25 kGy können jedoch physikalische und chemische Veränderungen auftreten, besonders bei Kunststoffen. Dazu gehören Verfärbungen, Ausdünnung oder spröde Materialien zum Beispiel bei Kunststoffverpackungen. Diese Belastungen sollten besonders beim Einsatz von Schutzgasen berücksichtigt werden, da die Dichtheit der Verpackungen gemindert werden kann.

[00107] Bei der Herstellung des erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchens wird die Elektronenbestrahlung bevorzugt, weil dadurch die Thrombinaktivität am wenigsten beeinträchtigt wird.

[00108] Die erfindungsgemäße Suspension zur Beschleunigung der Blutgerinnung in einem Blutentnahmeröhrchen enthält zumindest einen Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren. Ferner ist zumindest ein weiterer Gerinnungsaktivator, vorzugsweise Siliziumdioxidpartikel, zumindest ein wasserlösliches Bindemittel ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren, zumindest ein Konservierungsmittel, vorzugsweise ein Paraben, insbesondere Propyl-4-hydroxybenzoat, zumindest einem Silikonöl, insbesondere wasserlösliches Silikonöl und ein Mittel zum Einstellen des pH-Werts, insbesondere Lithiumhydroxid Monohydrat enthalten.

[00109] Die Suspension umfasst einen Blutgerinnungsaktivator, insbesondere Thrombin, in einer Menge von 0,5 Gew.-% bis 1,7 Gew.-%, welche zu einer Aktivität von 1,9 U/mg in der Suspension führt.

[00110] Ferner ist zumindest ein weiterer Gerinnungsaktivator, vorzugsweise Siliziumdioxidpartikel, in einer Menge von 0,5 Gew.-% bis 7 Gew.-%, insbesondere 1 Gew.-% bis 3 Gew.-%, vorzugsweise 1,5 Gew.-% bis 2 Gew.-% enthalten.

[00111] Das zumindest eine wasserlösliche Bindemittel ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren, ist in einer Menge von 0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, insbesondere 0,5 Gew.-% bis 4 Gew.-%, vorzugsweise 1,5 Gew.-% bis 3,5 Gew.-% in der Suspension enthalten, wobei vorzugsweise Polyvinylpyrrolidon, in der oben angeführten Menge in der Suspension zur Sprühtrocknung enthalten ist.

[00112] Das zumindest eine Konservierungsmittel, vorzugsweise ein Paraben, insbesondere Propyl-4-hydroxybenzoat, ist in einer Menge von 0,001 Gew.-% bis 1 Gew.-%, insbesondere 0,05 Gew.-% bis 0,1 Gew.-%, vorzugsweise 0,01 Gew.-% bis 0,03 Gew.-% in der Suspension enthalten.

[00113] Das zumindest eine Mittel zur Verbesserung der Gleitfähigkeit des Trenngels bzw. Blutkuchens und zum besseren Resuspendieren ist vorzugsweise Silikonöl, insbesondere wasserlösliches Silikonöl, und ist in einer Menge von 0,05 Gew.-% bis 2 Gew.-%, insbesondere 0,1 Gew.-% bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,2 Gew.-% bis 0,4 Gew.-% in der Suspension enthalten.

[00114] Das Mittel zum Einstellen des pH-Werts, insbesondere Lithiumhydroxid Monohydrat, ist in einer Menge von 0,0001 Gew.-% bis 0,01 Gew.-%, insbesondere 0,0005 Gew.-% bis 0,007 Gew.-%, vorzugsweise 0,002 Gew.-% bis 0,005 Gew.-%, in der Suspension enthalten.

[00115] Liegt die Suspension basisch vor kann auch eine Säure zum Einstellen des Ziel pH-Werts verwendet werden.

[00116] Die oben genannten Komponenten sind in Wasser, vorzugsweise ultrareinem Wasser, enthalten.

[00117] Es entsteht eine milchig weiße wässrige Suspension mit einem Partikelgehalt von 1,6 Gew.-% bis 1,8 Gew.-% und einem pH-Wert zwischen 6,5 und 7,5.

[00118] Die erfindungsgemäße Suspension kann in Form einer Flüssigkeit oder als Beschichtung, insbesondere sprühgetrocknet, in einem Blutentnahmeröhrchen enthalten sein.

[00119] Im erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen kann in der für die Sprühbeschichtung vorgesehenen Suspension auf die Verwendung eines Stabilisators für die Hydrolase verzichtet werden, und dennoch ist das Enzym in der Suspension ausreichend stabilisiert. Durch das Weglassen eines Stabilisators in der Suspension können somit auch die Produktionskosten für das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen gesenkt werden.

[00120] Durch fünf- bis zehnmaliges Schwenken des Röhrchens unmittelbar nach der Blutentnahme wird eine vollständige Durchmischung der Vollblutprobe mit dem sprühgetrockneten Additiv an der Röhrcheninnenwand gewährleistet und somit kommt der Blutgerinnungsaktivator gleichmäßig mit der Blutprobe in Kontakt und es kann eine gleichmäßige und vollständige Gerinnung der Blutprobe erfolgen, um Serum zu gewinnen.

[00121] Das Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Suspension umfasst die Schritte:

(i) Lösen der wasserlöslichen Bestandteile:

zumindest ein wasserlösliches Bindemittel, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren,

zumindest ein Silikonöl, vorzugsweise ein wasserlösliches Silikonöl, und

zumindest ein Konservierungsmittel, insbesondere ein Paraben, vorzugsweise Propyl-4-hydroxybenzoat, in einem wässrigen Medium,

(ii) Einstellen des pH-Werts mit einer Säure oder Base, vorzugsweise Lithiumhydroxid Monohydrat,

(iii) Sterilfiltration der Lösung,

(iv) Einrühren zumindest eines heißsterilisierten Gerinnungsaktivators auf Siliziumdioxidbasis und

(v) gegebenenfalls Sterilabfüllung der Suspension,

(vi) Hinzufügen eines Blutgerinnungsaktivators, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren mit einer Zielkonzentration von 1 U/mg bis 3 U/mg, vorzugsweise 1,5 U/mg bis 2,5 U/mg, insbesondere 1,7 U/mg bis 2,1 U/mg. Das wässrige Medium ist vorzugsweise ultrareines Wasser.

BEISPIELE

BEISPIEL 1

[00122] Auf den Boden des Blutentnahmeröhrchens werden 0,8 ml des thixotropen Trennmittels, insbesondere Trenngels, welches als Serumentrennmittel agiert, gefüllt.

[00123] Anschließend werden Siliziumdioxidpartikel in Menge von 2,5 Gew.-% in Wasser gelöst, um eine Suspension zu erhalten, danach wird Polyvinylpyrrolidon in einer Menge von 4 Gew.-% aufgelöst. Anschließend werden noch Silikonöl in einer Menge von 1 Gew.-%, Propyl-4-hydroxy-

benzoat in deiner Menge von 0,5 Gew.-% und Lithiumhydroxid Monohydrat in einer Menge von 0,009 Gew.-% hinzugefügt und dispergiert, um eine Suspension zu erhalten. Zuletzt wird zur gebrauchsfertigen Suspension noch die Hydrolase, vorzugsweise Thrombin, in einer Menge von 11 Units pro mL zu sammelndem Blut hinzugefügt.

[00124] Die so erhaltene blutgerinnungsfördernde Suspension wird gleichmäßig durch Sprühbeschichtung auf die gesamte Innenfläche des röhrenförmigen Behälters gesprüht und getrocknet.

[00125] Das Verschlusselement wird dicht an der Öffnung des röhrenförmigen Behälters angebracht. Der Druck im Inneren wird reduziert, um ein Vakuum-Blutentnahmeröhrchen zu erhalten, dessen Blutentnahmemenge 3,5 mL oder 5 mL beträgt.

[00126] In der nachfolgenden Tabelle 1 sind weitere Beispiele für mögliche Zusammensetzungen für die Suspension zur Sprühbeschichtung für das Blutentnahmeröhrchen aufgelistet, wobei die Mengen für die einzelnen Komponenten wie angeführt variieren.

Tabelle 1: Beispiele

Stoff	Beispiel 2	Beispiel 2	Beispiel 2	Beispiel 5
Wasser	Rest	Rest	Rest	Rest
Siliziumdioxidpartikel	1,1 Gew.-%	1,5 Gew.-%	1,7 Gew.-%	1,8 Gew.-%
Polyvinylpyrrolidon	5 Gew.-%	0,5 Gew.-%	1,5 Gew.-%	3,5 Gew.-%
Silikonöl	0,9 Gew.-%	0,1 Gew.-%	1 Gew.-%	0,8 Gew.-%
Propyl-4-hydroxybenzoat	0,002 Gew.-%	0,9 Gew.-%	0,05 Gew.-%	0,02 Gew.-%
Lithiumhydroxid Monohydrat	0,01 Gew.-%	0,0005 Gew.-%	0,007 Gew.-%	0,002 Gew.-%
Thrombin	6 U pro ml Blut	14 U pro ml Blut	8 U pro ml Blut	10 U pro ml Blut

Stoff	Beispiel 6	Beispiel 7	Beispiel 8	Beispiel 9
Wasser	Rest	Rest	Rest	Rest
Siliziumdioxidpartikel	1,7 Gew.-%	1,7 Gew.-%	1,7 Gew.-%	1,7 Gew.-%
Polyvinylpyrrolidon	2,5 Gew.-%	2,5 Gew.-%	2,5 Gew.-%	2,5 Gew.-%
Silikonöl	0,33 Gew.-%	0,33 Gew.-%	0,33 Gew.-%	0,33 Gew.-%
Propyl-4-hydroxybenzoat	0,02 Gew.-%	0,02 Gew.-%	0,02 Gew.-%	0,02 Gew.-%
Lithiumhydroxid Monohydrat	0,0036 Gew.-%	0,0036 Gew.-%	0,0036 Gew.-%	0,0036 Gew.-%
Thrombin	11 U pro ml Blut	12 U pro ml Blut	13 U pro ml Blut	14 U pro ml Blut

Stoff	Beispiel 10	Beispiel 11	Beispiel 12	Beispiel 13
Wasser	Rest	Rest	Rest	Rest
Siliziumdioxidpartikel	1,7 Gew.-%	2,1 Gew.-%	1,5 Gew.-%	1,9 Gew.-%
Polyvinylpyrrolidon	2,5 Gew.-%	1,9 Gew.-%	2 Gew.-%	3 Gew.-%
Silikonöl	0,3 Gew.-%	0,2 Gew.-%	0,4 Gew.-%	0,1 Gew.-%

Propyl-4-hydroxybenzoat	0,02 Gew.-%	0,015 Gew.-%	0,01 Gew.-%	0,03 Gew.-%
Lithiumhydroxid Monohydrat	0,005 Gew.-%	0,01 Gew.-%	0,009 Gew.-%	0,0009 Gew.-%
Thrombin	16 U pro ml Blut	12 U pro ml Blut	11 U pro ml Blut	13 U pro ml Blut

[00127] In Beispiel 9, bei welchem der Blutgerinnungsaktivator in einer Menge von 14 U pro ml gesammeltem Blut verwendet wird, werden weder Fibrinfäden noch zelluläre Bestandteile im Serum detektiert. Zudem ist die Koagulationszeit im Rahmen von unter fünf Minuten. Andererseits zeigt Beispiel 10, wo der Blutgerinnungsaktivator in einer Menge von 16 U pro ml zu sammelndem Blut enthalten ist, Hämolyse, das in weiterer Folge einen Einfluss auf die Qualität des Analysere-sultats haben kann.

[00128] Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse beträgt die Menge des Blutgerinnungsaktiva-tors der Suspension vorzugsweise 6 bis 14 Units pro ml des zu entnehmenden Blutes.

[00129] Die Ausführungsbeispiele zeigen mögliche Ausführungsvarianten, wobei an dieser Stelle bemerkt sei, dass die Erfindung nicht auf die speziell dargestellten Ausführungsvarianten dersel-ben eingeschränkt ist, sondern vielmehr auch diverse Kombinationen der einzelnen Ausführungs-varianten untereinander möglich sind und diese Variationsmöglichkeit aufgrund der Lehre zum technischen Handeln durch gegenständliche Erfindung im Können des auf diesem technischen Gebiet tätigen Fachmannes liegt.

EXPERIMENTE

[00130] In Untersuchungen wird die Qualität der erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen be-stimmt. Es werden dabei unterschiedliche Zusammensetzungen der Suspension, insbesondere der Thrombinmenge, als auch unterschiedliche Parameter im Herstellungsverfahren analysiert.

[00131] Zur Beurteilung der Probenqualität wurden die folgenden Parameter bewertet und ge-messen:

- Visuelle Bestimmung der Gerinnungszeit,
- visuelle Bestimmung der Fibrinrückstände,
- analytische Bestimmung des freien Hämoglobins mit der 3-Wellenlängen- Methode nach Harboe.
- Quantitative Bestimmung der freien Zellen (Messung durch Blutzentrale Linz).

[00132] Um die Thrombinstabilität zu bestimmen, werden nach der Herstellung der Blutentnah-meröhrchen verschiedene Behandlungen zur Nachtrocknung, wie Standard- und Vakuumtrock-nung, und unterschiedliche Sterilisationsverfahren, wie Elektronenbestrahlung und Gammabe-strahlung, verglichen. Um den Einfluss der einzelnen Maßnahmen auf die Thrombinaktivität zu bestimmen, werden die Thrombinaktivität und der Wassergehalt bei bestimmten Prozessschritten auch während des Herstellungsprozesses bestimmt. Aber auch die Lagerungsstabilität der fertig hergestellten Suspension vor dem Einbringen in das Blutentnahmeröhrchen wird unter Einfluss unterschiedlicher Temperaturen bestimmt.

[00133] Um die Thrombinstabilität in der erfindungsgemäßen Suspension-Sprühlösung besser beurteilen zu können, wird die Aktivität über einen Zeitraum von 6 Tagen, aufgeteilt auf 6 Mess-zeitpunkte, und nach 26 Tagen bei unterschiedlichen Temperaturen, wie bei Raumtemperatur und 4°C bis 8°C, gemessen.

[00134] Die Lagerungsstabilität des Thrombins in der Suspension, welche zum Besprühen der Innenwand des Blutentnahmeröhrchens vorgesehen ist, wird durch die Temperatur beeinflusst. Sie ist in allen Fällen besser, wenn die Suspension im Kühlschrank bei 4°C bis 8°C gelagert wird. Ein maximaler Thrombinabbau von -10% über einen Zeitraum von 72 Stunden wird als tolerierbar

erachtet. Ein weiterer Abbau des Thrombin erfolgt zu den weiteren Messzeitpunkten. Die Suspension wird daher mit zusätzlichen 10% Thrombin hergestellt, um diesen Verlust auszugleichen, und die maximale Lagerzeit der Suspension zum Besprühen ist auf 3 Tage beschränkt.

[00135] Des Weiteren wird auch der Einfluss des Trocknungsverfahrens des Blutentnahmeröhrchens nach dem Besprühen der Röhrcheninnenwand auf die Thrombinstabilität analysiert. Es soll gezeigt werden, welchen Einfluss ein Standardtrocknungsprozess oder eine Vakuumtrocknungskammer auf die Thrombinstabilität hat. Trocknen die Röhrchen nach der Herstellung in einem Standardtrocknungsprozess langsam, kommt es zu einer Thrombinaktivitätsreduktion von 10 % bis 19 %, wohingegen bei einer Vakuumtrocknung es lediglich zu einer Reduktion von 9 bis 17 % kommt. Es wird angenommen, dass die Restfeuchtigkeit die Hydrolyse des Thrombins begünstigt und somit mit dem Abbau des Enzyms zusammenhängt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die vollständige Trocknung der Blutentnahmeröhrchen unmittelbar nach der Herstellung die Thrombinstabilität verbessert.

[00136] Im Vergleich zur Elektronenbestrahlung, wo ca. 15 % der Thrombinaktivität verloren geht, wird durch Gammastrahlen, wo ca. 40 % der Thrombinaktivität verloren geht, wesentlich mehr Thrombin zerstört, wobei die Standarddosis für Elektronenbestrahlung 7,1-15,0 kGy und für Gammastrahlung 24,5 bis 40 kGy beträgt. Dementsprechend ist das Ausmaß des Thrombinabbaus von der Dosis und der Art der Bestrahlung abhängig.

[00137] Bei einem Standardbestrahlungsverfahren mit Elektronenbestrahlung von 7,1 kGy bis 15,0 kGy für Blutentnahmeröhrchen mit Trenngel gehen etwa 15 % der Thrombinaktivität verloren, wobei die Blutentnahmeröhrchen zudem 6 Tage vor der Bestrahlung noch gelagert werden.

[00138] Es zeigt sich somit, dass die vollständige Trocknung unmittelbar nach dem Sprühen die Thrombinstabilität erhält. Die Elektronenbestrahlung in der validierten Dosis von 7,1 kGy bis 15,0 kGy verhindert zudem einen erhöhten Thrombinabbau im erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen.

[00139] Sowohl die Funktionalität des Blutentnahmeröhrchen nach der Herstellung mit einer anfänglichen Thrombinaktivität als auch die Funktionalität des Blutentnahmeröhrchen am Ende der Haltbarkeitsdauer nach 12 Monaten muss gewährleistet sein.

[00140] Die Wiederfindungsrate von Thrombin bei Blutentnahmeröhrchen mit einer Thrombin-Ausgangskonzentration von 6 Units bis 10 Units pro mL Blut beträgt unmittelbar nach der Herstellung 95 bis 105 %.

[00141] Fünf Tage nach der Herstellung und einen Tag nach der Elektronenstrahlen-Sterilisation liegt die Wiederfindungsrate zwischen 79 % und 93 % der Ausgangskonzentration, insbesondere bei getesteten 6 U/mL bis 10 U/mL Prototypen werden 86 % bei einem Blutentnahmeröhrchen mit einer anfänglichen Thrombinaktivität von 6 U/mL, 93 % bei einem Blutentnahmeröhrchen mit einer anfänglichen Thrombinaktivität von 8 U/mL und 90 % bei einem Blutentnahmeröhrchen mit einer anfänglichen Thrombinaktivität von 10 U/mL wiedergefunden.

[00142] Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse wird ein durchschnittlicher Verlust von 15 % der Thrombinaktivität zwischen der Produktion und nach der Sterilisation im erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen angenommen.

[00143] Blutentnahmeröhrchen mit niedrigeren Thrombinausgangsmengen von 2 U/mL bis 4 Units pro mL Blut zeigten einen erhöhten relativen Thrombinabbau. Blutentnahmeröhrchen mit höherer Thrombinkonzentration von 6 U/mL bis 10 Units pro mL Blut zeigen während der Sterilisation und in den ersten Tagen der Lagerung weniger Thrombin abzubauen mit einer Wiederfindungsrate von 86 % bis 93 % Thrombin.

[00144] Selbst nach 4 Monaten Lagerung bei 25°C weisen die Blutentnahmeröhrchen mit 10 U/mL Thrombin einen Verlust von etwa 23% auf, wobei sich die Aktivität während dieser Lagerzeit nicht wesentlich verändert hat. Durch den parallelen Verlust des Ziehvolumens bis zum Ende der Lagerzeit und somit einem geringeren Füllvolumen liegt eine konstante Aktivität im Röhrchen auch über eine längere Lagerung der Blutentnahmeröhrchen vor.

[00145] Nachfolgende Experimente zeigen, dass die im erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen enthaltene Menge Thrombin eine volle Funktionalität zeigt. Das erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen ist in vielen nachfolgend bestimmten Parametern besser als jene aus dem Stand der Technik bekannten Blutentnahmeröhrchen.

[00146] Als Referenz für diese Studie wird das aus dem Stand der Technik bekannte Vacuette® Serum Fast Blutentnahmeröhrchen (Probe A) verwendet. Es werden fünf erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen (Probe B bis F), ein BCA-Fast-Investigational Röhrchen mit 5 U/mL Thrombin (Probe G), BD Vacutainer® RST (Probe H), SEKISUI Insepack® II-D (Probe I) und AB Medical VQ-Tube (Probe J) getestet und untersucht. Die Zentrifugation erfolgt bei 1800 g für 10 Minuten.

[00147] Zusätzlich werden erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen mit 2 U/mL (Probe K) und 10 U/mL (Probe L) für 5 Minuten bei 3000 g zentrifugiert.

[00148] Um die Probenqualität zu messen und zu bewerten, werden standardisierte Messverfahren implementiert, auf deren Basis ein Vergleich der Probenqualität möglich ist. Zur Beurteilung der Probenqualität werden die folgenden Parameter bewertet und gemessen:

- Visuelle Bestimmung der Gerinnungszeit,
- visuelle Bestimmung der Fibrinrückstände,
- analytische Bestimmung des freien Hämoglobins mit der 3-Wellenlängen- Methode nach Harboe zur Bewertung von Hämolysen,
- Quantitative Bestimmung der freien Zellen.

[00149] Zur Bestimmung der Bewertung der Gerinnungsperformance werden Messverfahren zur standardisierten Bewertung von Gerinnungsabläufen implementiert: automatisiert: Hämostase-analysesystem Rotem Delta, und manuell: mittels Schwenkmethode und optischer Bewertung.

[00150] Die Ergebnisse zeigen einen indirekt proportionalen Zusammenhang zwischen Thrombinaktivität und Gerinnungszeit. Der Prototyp Probe C mit 4 U/mL Zielthrombinspiegel (zum Zeitpunkt der Studie 2,5 U Thrombin pro mL Blut) erreicht zwar die gewünschte Gerinnungszeit von weniger als fünf Minuten (Ergebnis: 1,7 Minuten), allerdings weist diese Probe C eine unbefriedigend niedrige Anzahl fibrinfreier Serumproben von nur 60 % auf. Es scheint die Gerinnung in den restlichen 40 % der Röhrchen optisch abgeschlossen zu sein, während erhebliche Teile der Gerinnung klinisch nicht abgeschlossen sind, was zu Nachgerinnungseffekten nach der Zentrifugation führt. Der Mindestthrombinspiegel muss daher höher sein als in dieser Prototypenprobe Probe C und somit über 4 U/mL betragen.

[00151] Ziel ist es, dass mindestens 80 % der Proben ein fibrinfreies Serum liefern. Ein Prototyp mit 6 U/mL (mit tatsächlich 5,4 U/mL Thrombinaktivität zum Zeitpunkt der Studie) liefert 70 % und ein Prototyp mit 8 U/mL (mit einer tatsächlichen Thrombinaktivität von 7,7 U/mL zum Zeitpunkt der Studie) liefert 90 % fibrinfreie Serumproben. Daher liegt der Zielthrombinwert, der das 80% Kriterium erfüllt, zwischen 5,4 U/mL und 7,7 U/mL. Geht man von einer linearen Korrelation zwischen den beiden Prototypen mit 70 % und 90 % aus, so liegt der Zielthrombinspiegel für 80 % in der Mitte bei 6,5 U/mL. Daher werden 6,5 U/mL Thrombin als der minimal notwendige Thrombinwert definiert, um eine zufriedenstellende Produktleistung zu erzielen.

[00152] Um jedoch die Produktqualität weiter zu erhöhen und die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass die minimal erforderliche Thrombinaktivität auch am Ende der Haltbarkeitsdauer erfüllt ist, ist die Thrombinmenge auf mindestens 7,3 U/mL anzusetzen.

TABELLE 2: ZUSAMMENFASSUNG ALLER ERGEBNISSE (MITTELWERTE) UND RWBC, RRBC UND RPLT (MEDIAN) ÜBER ALLE PROBEN

	Thrombinaktivität [U/mL Blut]	Gerinnungszeit [min]	Fibrinfreies Serum [%]	Freies Hämoglobin [mg/dL]	rWBC [Restzellen/μL]	rRBC [Restzellen/μL]	rPLT [Restzellen/μL]
Probe A GBO Vacuette® CAT Serum Fast Separator	11,2	1,0	60	7,1	0,100	563	173
Probe B Serum-Fast Prototyp 2 U/mL	1,5	3,4	25	2,1	0,190	120	42
Probe C Serum-Fast Prototyp 4 U/mL	2,5	1,7	60	3,7	0,280	83	46
Probe D Serum-Fast Prototyp 6 U/mL	5,4	1,1	70	2,4	0,100	115	66
Probe E Serum-Fast Prototyp 8 U/mL	7,7	1,1	90	2,5	0,190	157	119
Probe F Serum-Fast Prototyp 10 U/mL	10,6	1,0	95	2,7	0,190	144	206
Probe G BCA-Fast - investigational 5 U/mL	3,1	1,8	37,5	3,7	0,190	143	37
Probe H BD Vacutainer® RST	19,9	1,0	92,5	4,5	0,470	238	273
Probe I Sekisui Insepack® II-D	16,3	1,1	77,5	3,5	0,470	222	145
Probe J AB Medical VQ-Tube	0,4	3,7	15	8,1	3,000	1254	155
Probe K Serum-Fast Prototyp 2 U/mL *	1,5	3,4	10	3,5	0,190	124	36
Probe L Serum-Fast Prototyp 10 U/mL *	10,6	1,0	87,5	3,8	0,190	294	283

* Zentrifugation bei 3000 g für 5 Minuten

[00153] Bezüglich freien Hämoglobins (fHb) zeigen die fünf erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen (Proben B bis F) mit 2 U/mL bis 10 U/mL die beste Serumqualität bei allen getesteten Proben. Sie schneiden deutlich besser ab als die Referenzprobe BCA-Fast (Probe A), wie auch alle anderen getesteten Produkte (Proben G bis J). Selbst die Probe L, die bei 3000g und 5 Minuten zentrifugiert wurde (Serum-Fast Prototypen 10 U/mL) zeigte vergleichbar gute fHb-Werte. Durch einen zu schnellen Gerinnungsablauf werden Hämolysen verursacht, die durch einen erkennbaren freien Hämoglobin-Anstieg im Serum nachgewiesen werden können.

[00154] Hinsichtlich der freien Zellen im Serum (weiße Blutkörperchen (rWBC), rote Blutkörperchen (rRBC) und Blut Blutplättchen (rPLT)) zeigen die erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen (Proben B bis F) 2-10 U/mL eine vergleichbare oder bessere Leistung im Vergleich zum Referenzröhrchen Probe A (Vacuette® CAT Serum Fast Separator (BCA-Fast), als auch im Vergleich zu den anderen Wettbewerbsproben Probe H (BD Vacutainer® RST), Probe I (SEKISUI Insepack® II-D) und Probe J (AB MedicalVQ-Tube). Mit zunehmender Thrombinaktivität kann ein Anstieg der Medianwerte der freien Thrombozyten (rPLT) in den erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen Probe E und Probe F, welche eine Thrombinaktivität von 8 U/mL und 10 U/mL aufweisen, beobachtet werden. Aber auch Probe H (BD Vacutainer® RST) zeigt höhere Werte im Median. Dies kann auf die ultraschnelle Gerinnung zurückzuführen sein. Es wird gezeigt, dass die mittlere Zellzahl/μL von rWBC (free white blood cells), rRBC (free red blood cells), rPLT (free platelets) im Serum der erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen gering ist.

[00155] Im Vergleich zu den aus dem Stand der Technik bekannten BCA-Fast- Blutentnahmeröhrchen und Konkurrenzprodukten weisen die erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen (Proben B bis F) mit steigender Thrombinaktivität von 8-10 U/mL im Allgemeinen eine zufriedenstellende Gerinnungszeit von ca. einer Minute auf, eine vergleichsweise gute Serumqualität in Bezug auf den Anteil fibrinfreier Proben, niedriges freies Hämoglobin sowie einen geringen Gehalt an freien Zellen im Serum.

[00156] Probe L mit 10 U/mL wird bei 3000g für 5 Minuten zentrifugiert und zeigt ebenfalls gute Resultate. Daher führt auch eine Zentrifugation bei 3000g für 5 Minuten zu einer zufriedenstellenden Serumqualität und kann die Durchlaufzeiten (TAT) für Blutproben weiter minimieren. Durch die höheren g-Kräfte steigen die Werte für freies Hämoglobin und freie Zellen nur leicht an.

[00157] Dieser Test zeigte eine gute Serumqualität für Röhrchen mit Thrombinkonzentrationen zwischen 4 und 10 U/mL.

[00158] Es wird auch analysiert, wie sich die Lagerungsdauer auf die Thrombinaktivität auswirkt. Der stärkste Thrombinabbau tritt nach der Lagerung bereits in den ersten Wochen und verändert sich dann kaum noch. Nach 4 Monaten Lagerung ist ein Verlust von etwa 23 % im Vergleich zur Thrombinaktivität, gemessen nach der Sterilisation, zu beobachten. Dieser Verlust ist bereits nach einem Monat vorhanden und ändert sich danach nicht mehr wesentlich. Für die weitere Lagerungszeit wird davon ausgegangen, dass die Thrombinaktivität stabil ist. Am Ende der Haltbarkeitsdauer von 12 Monaten soll noch eine mittlere Thrombinaktivität von 7,3 U/mL vorhanden sein.

Tabelle 3: Abbau von Thrombin während des Produktlebenszyklus

Abschnitt des Thrombinabbaus	Verlust der Thrombinaktivität
Herstellung der Suspension und 3 Tage Lagerung im Kühlschrank	-10 %
Vakuumtrocknung, Lagerung für 6 Tage und anschließende Elektronenbestrahlung bei 5 bis 10 kGy	-15 %
Lagerung von 12 Monaten	-23%

[00159] In einem weiteren Versuch werden drei Chargen der erfindungsgemäße Blutentnahmeröhrchen mit 5 mL Nennentnahmevolumen (Proben B, C, D und Proben G, H, I) mit dem BCA-Fast Röhrchen (Probe A und F) als Referenz und BD Vacutainer® RST (Probe E und J) nach der Zentrifugation bei 1800 g für 10 Minuten (Proben A bis E) bzw. 3000 g für 5 Minuten (Proben F bis J) verglichen.

[00160] In diesem Versuch werden die erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen, insbesondere Serumschnellröhrchen, mit bereits auf den Markt befindlichen Serumschnellröhrchen hinsichtlich ihrer Performance und Serumqualität anhand der Parameter

- Gerinnungszeit,
- Geldicke,
- Fibrinfädenbildung,
- freies Hämoglobin, und
- Restzellen

beurteilt.

[00161] Die Beobachtungen und Messungen werden von 2 Beobachtern durchgeführt, wobei Beobachter 1 die Proben A bis E und Beobachter 2 die Proben F bis J analysiert.

[00162] Der Versuch wird über mehrere Tage mit insgesamt 46 Blutspendern durchgeführt, wo-

bei von jedem der maximal 12 Blutspender pro Studientag 10 Röhrchen Blut entnommen und getestet werden.

[00163] Vor Beginn des Versuchs wird die Thrombinaktivität bestimmt. Diese beträgt bei Probe B und G jeweils 10,0 U/mL bis 13,2 U/mL, Probe C und H jeweils 11,1 U/mL bis 13,3 U/mL, und Probe D und I jeweils 10,0 U/mL bis 13,6 U/mL.

[00164] Die Blutentnahmeröhrchen werden zur Einleitung der Gerinnung fünf Mal invertiert und das Akzeptanzkriterium für die Gerinnungszeit beträgt fünf Minuten.

[00165] Es erfolgt eine visuelle Bewertung der Erythrozyten-Clotbildung und der Fibrinfädenbildung. Für die Fibrinfädenbildung werden Kategorien von 1 bis 6 wie in Tabelle 4 angeführt festgelegt und bestimmt.

Tabelle 4: Optisch feststellbare Fibrinreste

Kategorie	Fibrinformationen
1	Rote Fibrinfäden
2	Gelbliche Fibrinfäden
3	Erythrozytenklumpen
4	Gelseparation-beeinträchtigende Fibrinstrukturen
5	Fibrinwolke
6	Überstand geliert

[00166] Des Weiteren werden das Minimum und Maximum der Gelschichtdicke in mm gemessen.

[00167] In der nachfolgenden Tabelle 5 ist eine Zusammenfassung der Ergebnisse für Gerinnungszeit, Gelschichtdicke, freies Hämoglobin, Gesamtfibrinbildung (%) und rWBC, rRBC und rPLT (Median) für alle Proben der Studie in tabellarischer Form dargestellt. Für die Gerinnungszeit, Gelschichtdicke, freies Hämoglobin ist der Mittelwert und das 95% Konfidenzintervall angeführt.

Tabelle 5: Ergebnis des Chargenvergleichs der erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen

	Gerinnungszeit [min]	Gelschichtdicke [mm]	Gesamtfibrinbildung [%]	Freies Hämoglobin [mg/dL]	rWBC [Restzellen/ μ L]	rRBC [Restzellen/ μ L]	rPLT [Restzellen/ μ L]
Probe A GBO Vacuette® CAT Serum Fast Separator (BCA Fast)	1,1	-	17,4	8	0,096	426,14	256,41
Probe B Schnellgerinnungsröhrchen	1,2	6,9	17,4	3	0,096	172,23	197,81
Probe C Schnellgerinnungsröhrchen	1,1	6,8	2,2	4	0,099	163,04	233,70
Probe D Schnellgerinnungsröhrchen	1,0	7,0	8,7	4	0,096	180,31	187,81
Probe E BD Vacutainer® RST Rapid Serum	1,4	-	13,0	4	0,20	219,30	117,74

Clotting							
Probe F GBO Vacuette® CAT Serum Fast Separator (BCA Fast)	1,2	-	13,0	10	-	-	-
Probe G Schnellgerinnungsröhrchen	1,1	7,8	4,3	4	-	-	-
Probe H Schnellgerinnungsröhrchen	1,0	7,9	13,0	5	-	-	-
Probe I Schnellgerinnungsröhrchen	1,2	7,9	8,7	5	-	-	-
Probe J BD Vacutainer® RST Rapid Serum Clotting	1,5	-	6,5	5	-	-	-

[00168] Bei der gemessenen Gerinnungszeit kann das Akzeptanzkriterium von fünf Minuten (Mittelwert und 95% Konfidenzintervall) für alle Proben erfüllt werden.

[00169] Was die Dicke der Gelschicht betrifft, so erfüllen alle Proben das Akzeptanzkriterium von 5 mm (Mittelwert und 95% Konfidenzintervall).

[00170] Obwohl Fibrininformationen in einzelnen Röhrchen beobachtet werden, kann das Akzeptanzkriterium, dass weniger als 20 % aller Proben Fibrinreste aufweisen, ebenfalls für alle Produkte erfüllt werden.

[00171] Fallweise werden Überschreitungen des Akzeptanzkriteriums von 50 mg/dL freies Hämoglobin beobachtet. Zusätzlich zur Probandenabhängigkeit wird auch ein Anstieg der Einzelwerte bei einer höheren g-Zahl von 3000 beobachtet.

[00172] Im Vergleich zu 1800 g wird bei 3000 g ein signifikanter Anstieg von Einzelproben, die den Referenzbereich von 5 mg/dL überschreiten, beobachtet. Obwohl dies zu einem Anstieg des Mittelwerts führt, wird das erforderliche 95 % Intervall für die erfindungsgemäßen Proben G (4 mg/dL fHb), H (5 mg/dL fHb) und Probe I (5 mg/dL fHb) erfüllt.

[00173] Generell spielen präanalytische Faktoren eine große Rolle bei diesem Parameter und beeinflussen die Statistik im Einzelfall stark.

[00174] Bei den erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen Proben B, C, D und G, H, I der unterschiedlichen Chargen wird das erforderliche Akzeptanzkriterium von 5 mg/dL fHb für alle Proben unabhängig von den Zentrifugationsbedingungen (Mittelwert +CI) erfüllt. Zur Messung des freien Hämoglobins werden 150 µL des Überstandes jeder Probe direkt in eine Semi-Mikroküvette pipettiert und nach CE-TP006_Bestimmung des freien Hämoglobins (fHb) mit der 3-Wellenlängen-Methode nach Harboe bestimmt.

[00175] Für die Bestimmung der Restzellen im Serum (weiße Blutkörperchen, rote Blutkörperchen, Thrombozyten) konnte das Akzeptanzkriterium ebenfalls für alle Proben erfüllt werden (nach Zentrifugation von 1.800 g/10min) mit einem Konfidenzintervall von 95 % bei rWBC: $\leq 0,47$ Zellen/ μ L, rRBC: ≤ 238 Zellen/ μ L, rPLT: ≤ 273 Zellen/ μ L. Die Bestimmung der Restzellen erfolgt gemäß der IFU des Herstellers und der internen SOP der Blutzentrale Linz am Gerät FACS Canto II. Die Bestimmung der Restzellen erfolgt aus dem oberen Drittel des Serumüberstands.

[00176] Die getesteten erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen Proben B, C, D, G, H und I zeigen eine bessere Gesamtleistung im Vergleich zum Referenzprodukt GBO Vacutte® CAT Serum Fast Separator (BCA-Fast, Probe A und F), sowie eine vergleichbar gute Gesamtleistung im Vergleich zum Mitbewerberprodukt (BD Vacutainer® RST, Probe F und J).

[00177] Der Versuch zeigt, dass erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen bezüglich der häu-

figsten biochemischen Analyten, die in der Notaufnahme und im ambulanten Bereich ermittelt werden, bessere bzw. zumindest vergleichbare Testergebnisse liefern wie derzeit auf dem Markt befindliche Serumschnellröhrchen. Die erfindungsgemäßen Blutentnahmeröhrchen ermöglichen somit kurze Durchlaufzeiten für Serumproben.

[00178] Der Schutzbereich ist durch die Ansprüche bestimmt. Die Beschreibung und die Zeichnungen sind jedoch zur Auslegung der Ansprüche heranzuziehen. Einzelmerkmale oder Merkmalskombinationen aus den gezeigten und beschriebenen unterschiedlichen Ausführungsbeispielen können für sich eigenständige erfinderische Lösungen darstellen. Die den eigenständigen erfinderischen Lösungen zugrundeliegende Aufgabe kann der Beschreibung entnommen werden.

[00179] Sämtliche Angaben zu Wertebereichen in gegenständlicher Beschreibung sind so zu verstehen, dass diese beliebige und alle Teilbereiche daraus mitumfassen, z.B. ist die Angabe 1 bis 10 so zu verstehen, dass sämtliche Teilbereiche, ausgehend von der unteren Grenze 1 und der oberen Grenze 10 mit umfasst sind, d.h. sämtliche Teilbereiche beginnen mit einer unteren Grenze von 1 oder größer und enden bei einer oberen Grenze von 10 oder weniger, z.B. 1 bis 1,7, oder 3,2 bis 8,1, oder 5,5 bis 10.

[00180] Der Ordnung halber sei abschließend darauf hingewiesen, dass zum besseren Verständnis des Aufbaus Elemente teilweise unmaßstäblich und/oder vergrößert und/oder verkleinert dargestellt wurden.

Ansprüche

1. Blutentnahmeröhrchen umfassend einen röhrenförmigen Behälter mit einer Öffnung an einem Ende und einem Boden am anderen Ende, der dem einen Ende gegenüber liegt, und eine Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Suspension im Wesentlichen auf einer gesamten Innenoberfläche des röhrenförmigen Behälters durch Sprühbeschichten aufgebracht und abgelagert ist.
2. Blutentnahmeröhrchen nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Menge des Blutgerinnungsaktivators im Blutentnahmeröhrchen 6 Units bis 14 Units pro mL zu sammelndem Blut, insbesondere 7,3 Units bis 13,7 Units pro mL zu sammelndem Blut, beträgt.
3. Blutentnahmeröhrchen nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass in der Suspension 0,5 Gew.-% bis 1,7 Gew.-% des Blutgerinnungsaktivators enthalten sind, welche zu einer Aktivität von 1,9 U/mg in der Suspension führen.
4. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Hydrolase eine Serinprotease, insbesondere Thrombin, ist.
5. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Suspension zumindest einen weiteren Gerinnungsaktivator, insbesondere Siliziumdioxidpartikel, enthält.
6. Blutentnahmeröhrchen nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass in der Suspension 0,5 Gew.-% bis 7 Gew.-%, insbesondere 1 Gew.-% bis 3 Gew.-%, vorzugsweise 1,5 Gew.-% bis 2 Gew.-% Siliziumdioxidpartikel enthalten sind.
7. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Suspension zumindest ein Silikonöl, vorzugsweise ein wasserlösliches Silikonöl, enthält.
8. Blutentnahmeröhrchen nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass Silikonöl in einer Menge von 0,05 Gew.-% bis 2 Gew.-%, insbesondere 0,1 Gew.-% bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,2 Gew.-% bis 0,4 Gew.-% in der Suspension enthalten ist.
9. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass in der Suspension ein Konservierungsmittel, insbesondere ein Paraben, vorzugsweise Propyl-4-hydroxybenzoat, enthalten ist.
10. Blutentnahmeröhrchen nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Konservierungsmittel, insbesondere Propyl-4-hydroxybenzoat, in einer Menge von 0,001 Gew.-% bis 1 Gew.-%, insbesondere 0,05 Gew.-% bis 0,1 Gew.-%, vorzugsweise 0,01 Gew.-% bis 0,03 Gew.-% in der Suspension enthalten ist.
11. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 9, **dadurch gekennzeichnet**, dass in der Suspension ein wasserlösliches Bindemittel, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren, enthalten ist.
12. Blutentnahmeröhrchen nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet**, dass das wasserlösliche Bindemittel, insbesondere Polyvinylpyrrolidon, in einer Menge von 0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, insbesondere 0,5 Gew.-% bis 4 Gew.-%, vorzugsweise 1,5 Gew.-% bis 3,5 Gew.-% in der Suspension enthalten ist.
13. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 12, **dadurch gekennzeichnet**, dass der pH-Wert der Suspension in einem Bereich mit einer unteren Grenze von 4,0 und einer oberen Grenze 8,5, vorzugsweise zwischen 5,5 und 8,0, insbesondere zwischen 6,5 bis 7,5 liegt.

14. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass der pH-Wert der Suspension durch eine Säure oder Base einstellbar ist, vorzugsweise in der Suspension als Base Lithiumhydroxid Monohydrat zur Einstellung des pH-Werts enthalten ist.
15. Blutentnahmeröhrchen nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet**, dass Lithiumhydroxid Monohydrat in einer Menge von 0,0001 Gew.-% bis 0,01 Gew.-%, insbesondere 0,0005 Gew.-% bis 0,007 Gew.-%, vorzugsweise 0,002 Gew.-% bis 0,005 Gew.-%, in der Suspension enthalten ist.
16. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 14, **dadurch gekennzeichnet**, dass am Ende des Röhrchens mit der Öffnung abdichtend ein Stopfen befestigt ist.
17. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 16, **dadurch gekennzeichnet**, dass im Inneren des Blutentnahmeröhrchens ein reduzierter Druck vorliegt.
18. Blutentnahmeröhrchen nach einem der Ansprüche 1 bis 17, **dadurch gekennzeichnet**, dass ein Trenngel im Bereich des Bodens des Blutentnahmeröhrchens angeordnet ist.
19. Verfahren zur Herstellung eines Blutentnahmeröhrchens nach zumindest einem der Ansprüche 1 bis 18, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Suspension in einer Menge von 4,5 mg/mL bis 9 mg/mL Blut, vorzugsweise 5 mg/mL bis 8 mg/mL Blut, insbesondere 5,5 mg/mL bis 7,5 mg/mL Blut, in ein Blutentnahmeröhrchen eingesprüht wird.
20. Suspension mit zumindest einem Blutgerinnungsaktivator, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren, und zumindest einem weiteren Gerinnungsaktivator, vorzugsweise Siliziumdioxidpartikel, zumindest einem wasserlöslichen Bindemittel ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren, zumindest einem Konservierungsmittel, vorzugsweise ein Paraben, insbesondere Propyl-4-hydroxybenzoat, zumindest einem Silikonöl, insbesondere wasserlöslichem Silikonöl, und einem Mittel zum Einstellen des pH-Werts, insbesondere Lithiumhydroxid Monohydrat.
21. Verwendung der Suspension nach Anspruch 20, vorzugsweise sprühgetrocknet an der Röhrcheninnenwand eines Blutentnahmeröhrchens, als Blutgerinnungsaktivator in einem Blutentnahmeröhrchen.
22. Verfahren zur Herstellung einer Suspension umfassend die Schritte: (i) Lösen der wasserlöslichen Bestandteile: zumindest ein wasserlösliches Bindemittel, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Acrylsäurecopolymeren und Polyoxyalkylen-Blockcopolymeren, zumindest ein Silikonöl, vorzugsweise ein wasserlösliches Silikonöl, und zumindest ein Konservierungsmittel, insbesondere ein Paraben, vorzugsweise Propyl-4-hydroxybenzoat, in einem wässrigen Medium, (ii) Einstellen des pH-Werts mit einer Säure oder Base, vorzugsweise Lithiumhydroxid Monohydrat, (iii) Sterilfiltration der Lösung, (iv) Einrühren zumindest eines heißsterilisierten Gerinnungsaktivators auf Siliziumdioxidbasis und (v) gegebenenfalls Sterilabfüllung der Suspension (vi) Hinzufügen eines Blutgerinnungsaktivators, bei dem es sich um eine Hydrolase handelt, die in der Lage ist, die Bindung zwischen Arginin und irgendeinem Aminosäurerest und/oder die Bindung zwischen Lysin und irgendeinem Aminosäurerest in Peptidketten zu hydrolysieren mit einer Zielkonzentration von 1 U/mg bis 3 U/mg, vorzugsweise 1,5 U/mg bis 2,5 U/mg, insbesondere 1,7 U/mg bis 2,1 U/mg.

Hierzu keine Zeichnungen

Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC: B01L 3/00 (2006.01)		
Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß CPC: B01L 3/508 (2013.01)		
Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation): B01L		
Konsultierte Online-Datenbank: WPI, EPODOC		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 01.03.2024 eingereichten Ansprüchen 1-22 erstellt.		
Kategorie ^{*)}	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungs- datum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend An- spruch
X	EP 2320208 A1 (SEKISUI MEDICAL CO LTD [JP]) 11. Mai 2011 (11.05.2011) [0037], [0038], Ansprüche	1-22
X	JP 2001269328 A (SEKISUI CHEMICAL CO LTD) 02. Oktober 2001 (02.10.2001). (Zusammenfassung und Übersetzung). [Aus dem In- ternet abgerufen am 19.03.2024] Aus der Datenbank TXPJPOEA / 2017 Clarivate Analytics [0021]-[0029], Ansprüche	1-22
X	EP 1860436 A1 (SEKISUI CHEMICAL CO LTD [JP]) 28. November 2007 (28.11.2007) [0023], [0051], Ansprüche	1-22
Datum der Beendigung der Recherche: 19.03.2024 Seite 1 von 1 Prüfer(in): GÖRNER Wolfram		
^{*) Kategorien der angeführten Dokumente:} X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung : der Anmeldungsgegen- stand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfin- derischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. Y Veröffentlichung von Bedeutung : der Anmeldungsgegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Ver- öffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist. A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert. P Dokument, das von Bedeutung ist (Kategorien X oder Y), jedoch nach dem Prioritätstag der Anmeldung veröffentlicht wurde. E Dokument, das von besonderer Bedeutung ist (Kategorie X), aus dem ein „ älteres Recht “ hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen). & Veröffentlichung, die Mitglied der selben Patentfamilie ist.		