

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges  
Eigentum

Internationales Büro

(43) Internationales  
Veröffentlichungsdatum  
24. Januar 2013 (24.01.2013)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2013/010970 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation:  
G01N 21/27 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2012/063864

(22) Internationales Anmeldedatum:  
16. Juli 2012 (16.07.2012)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
11174320.9 18. Juli 2011 (18.07.2011) EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS PRODUCTS GMBH** [DE/DE]; Emil-von-Behring-Str. 76, 35041 Marburg (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SASS, Karl** [DE/DE]; Unterm Zaunacker 3, 35274 Kirchhain (DE). **GREIS, Dirk** [DE/DE]; Marburger Str. 36, 35099 Burgwald (DE). **NOAH, Michael** [DE/DE]; Pappelweg 3, 35041 Marburg (DE). **UECKERMANN, Christian** [DE/DE]; Feuertornweg 2, 35041 Marburg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY,

BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

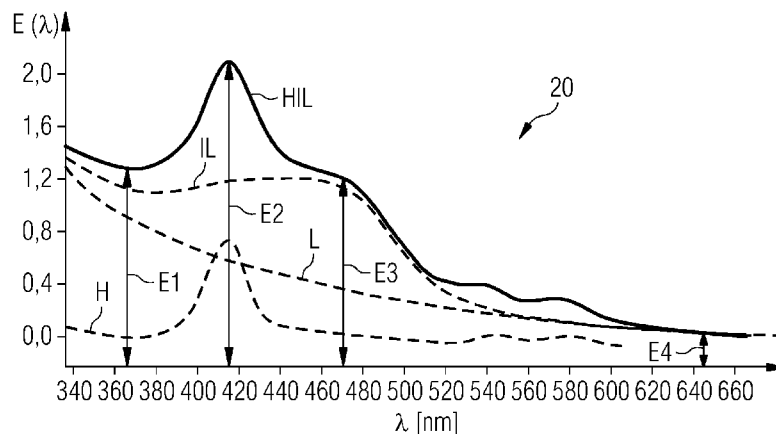
Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eingehen (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe h)

(54) Title: METHOD AND SYSTEM FOR DETERMINING THE CONCENTRATION OF SUBSTANCES IN BODY FLUIDS

(54) Bezeichnung : VERFAHREN UND SYSTEM ZUM BESTIMMEN DER KONZENTRATION VON SUBSTANZEN IN KÖRPERFLÜSSIGKEITEN

FIG 2



(57) Abstract: The invention relates to a method for the spectrophotometric determination of the concentration of multiple substances, preferably bilirubin, haemoglobin and lipids, in a sample of body fluid.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur spektrophotometrischen Bestimmung der Konzentrationen von mehreren Substanzen, bevorzugt von Bilirubin, Hämoglobin und Lipiden in einer Körperflüssigkeitsprobe.

WO 2013/010970 A1

## **Verfahren und System zum Bestimmen der Konzentration von Substanzen in Körperflüssigkeiten**

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren und ein System zum Bestimmen der Konzentration von Substanzen in Körperflüssigkeiten, insbesondere von Störsubstanzen wie Bilirubin, Hämoglobin und Lipiden in Blutserum- und Blutplasma-  
5  
maproben.

10  
Zahlreiche Nachweis- und Analyseverfahren zur Bestimmung physiologischer Parameter in Körperflüssigkeitsproben beruhen auf photometrischen Messprinzipien. Photometrische Verfahren ermöglichen den qualitativen und quantitativen Nachweis von Analyten in flüssigen Proben.

15  
Die Bestimmung klinisch relevanter Parameter, wie zum Beispiel der Konzentration oder der Aktivität eines Analyten erfolgt vielfach, indem ein Aliquot einer Körperflüssigkeit eines Patienten mit einem oder mehreren Testreagenzien in vitro  
20  
vermischt wird, wodurch eine biochemische Reaktion in Gang gesetzt wird, die eine messbare Veränderung einer optischen Eigenschaft des Testansatzes bewirkt. Die Photometrie untersucht und nutzt die Schwächung eines Lichtstroms beim Durchtritt durch ein absorbierendes und/oder streuendes Medium. Je  
25  
nach Art der ausgelösten biochemischen oder biophysikalischen Reaktion kommen unterschiedliche photometrische Messverfahren zum Einsatz, die die Messung eines trüben flüssigen Testansatzes ermöglichen.

30  
Hierzu können turbidimetrische Verfahren eingesetzt werden, bei denen die Trübung beziehungsweise die optische Dichte einer Lösung oder Suspension anhand der Lichtschwächung oder Extinktion eines direkt durch die Suspension hindurch tretenden Lichtstrahls gemessen wird.

35  
Die Intensität des Lichtstrahls nimmt beim Durchtritt durch eine Messzelle beziehungsweise Küvette, die eine flüssige

Probe enthält, ab. Die Verluste können durch Interaktionen des Lichtstrahls mit der in der Messzelle befindlichen Probe, beispielsweise durch Absorptions-, Diffraktions-, Streuungs- und/oder Reflexionseffekte beeinflusst werden. Im Allgemeinen können Diffraktions-, Beugungs- und Reflexionseffekte vernachlässigt beziehungsweise durch Referenzmessungen ausgeglichen werden, so dass hauptsächlich die Absorption zur Schwächung des Lichtstrahls beiträgt.

10 Photometrische Konzentrationsbestimmungen beruhen daher auf einer gesetzmäßigen Abhängigkeit der Extinktion beziehungsweise Absorption von der Konzentration der gelösten Stoffe und der Schichtdicke der Messzelle bei einer bestimmten Wellenlänge des eingestrahlt Lichts. Diesen Zusammenhang beschreibt das Lambert-Beersche Gesetz:

$$E(\lambda) = -\log(I/I_0) = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d \quad (1)$$

wobei  $E(\lambda)$  die von der Wellenlänge  $\lambda$  des Lichtstrahls abhängige Extinktion,  $I$  die Lichtintensität nach Durchtritt durch die Probe,  $I_0$  die Lichtintensität vor Durchtritt durch die Probe,  $\varepsilon(\lambda)$  der wellenlängenabhängige molare Extinktionskoeffizient eines durchstrahlten Stoffes,  $c$  die molare Konzentration des durchstrahlten Stoffes und  $d$  die durch den Lichtstrahl durchstrahlte Schichtdicke, beispielsweise der Messzelle ist.

Anhand der Extinktion  $E(\lambda)$  einer Probe lässt sich die Konzentration einer Substanz in einer Lösung ermitteln. Dazu ist es erforderlich, dass zuvor die Extinktion mindestens einer Standardlösung bekannter Konzentration bestimmt wurde. Da sich die Extinktion proportional zur Konzentration verhält, kann mittels Kalibration durch Extinktionsmessungen mehrerer Standardlösungen bekannter Konzentrationen die Konzentration einer gelösten Substanz ermittelt werden.

Die Extinktion einer Probe hängt jedoch nicht nur von der Konzentration der zu bestimmenden Substanz selbst ab, sondern auch von der Art der Probenmatrix. Die Extinktionen verschiedener Substanzen verhalten sich in einem Gemisch additiv, so-  
5 fern die Substanzen nicht untereinander wechselwirken. Körperflüssigkeiten, wie beispielsweise Blutplasma oder Blutserum sind jeweils komplexe Gemische und enthalten neben dem zu bestimmenden Analyten eine Vielzahl weiterer Substanzen, die die Gesamtaborption der Probe beeinflussen.

10

Körperflüssigkeitsproben können jedoch in Einzelfällen abnormal hohe Konzentrationen einer oder mehrerer intrinsischer, also körpereigener Substanzen enthalten, die sich bei Überschreitung einer tolerablen Konzentration in photometrischen  
15 Detektionsverfahren als störend erweisen und sich zu einem systematischen Fehler auswirken können.

20

Probleme bereiten bekanntermaßen hämolytische, ikterische und/oder lipämische Serum- oder Plasmaproben, die über abnorm  
20 mal hohe Hämoglobin-, Bilirubin- und/oder Lipid-Konzentrationen verfügen. Abnormal hohe Konzentrationen dieser interferierenden Substanzen können durch einen pathologischen Zustand des Patienten oder aber durch eine unsachgemäße Probengewinnung oder -lagerung verursacht werden. Werden sol-  
25 che Proben einem photometrischen Verfahren unterworfen, das der Bestimmung eines analytischen, diagnostisch relevanten Parameters dient, besteht die Gefahr einer Fehlbestimmung die gegebenenfalls eine Fehldiagnose und schlimmstenfalls eine Fehlbehandlung des Patienten zur Folge haben kann. Die prä-  
30 nalytische Identifikation hämolytischer, ikterischer sowie lipämischer Proben ist also zur Vermeidung von fehlerhaften Analyseergebnissen von besonderer Wichtigkeit.

35

Es besteht daher ein Bedarf an Verfahren zur Ermittlung der spektrometrischen Auswirkungen störender Substanzen in Körperflüssigkeitsproben.

In EP-A1-1059522, US 4,263,512, US 2009/0009750 A1 und US 2010/0174491 A1 sind verschiedene Verfahren zur Bestimmung von Bilirubin, Hämoglobin und Lipiden in Plasma- oder Serumproben beschrieben. In der EP-A1-1059522 wird beispielsweise die nach Abzug der Extinktion durch Hämoglobin und Bilirubin verbleibende Extinktion, die insbesondere auch die durch Lipide verursachte Extinktion enthält, lokal linear approximiert.

10 Auch das letztgenannte Verfahren hat jedoch den Nachteil, dass gerade eine vergleichsweise hohe Lipidkonzentration die Bestimmung von Bilirubin und Hämoglobin in derselben Probe beeinflussen und somit die Messwerte verfälschen kann.

15 Der vorliegenden Erfindung liegt demnach die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur spektrophotometrischen Bestimmung mehrerer Substanzen in einer Körperflüssigkeitsprobe bereit zu stellen, das auch in Körperflüssigkeitsproben mit hohen Lipidkonzentrationen eine zuverlässige Bestimmung anderer Substanzen, wie beispielsweise Hämoglobin und Bilirubin, ermöglicht.

Diese Aufgabe wird durch das erfindungsgemäße Verfahren gelöst.

25 Eine Ausführungsform der vorliegenden Erfindung besteht in einem Verfahren zum Bestimmen der Konzentrationen von Substanzen in einer Körperflüssigkeitsprobe, mit den Schritten des Durchstrahlens einer Lipide und eine zweite und gegebenenfalls eine dritte Substanz enthaltenden Körperflüssigkeitsprobe mit einem Lichtstrahl bei einer Vielzahl von Lichtwellenlängen und des Erfassens einer Vielzahl von Messwerten der Extinktion der Körperflüssigkeitsprobe bei der Vielzahl von Wellenlängen, des Berechnens einer potenzfunktionalen Näherungskurve der Form

$$E(\lambda) = p \cdot \lambda^{-q}$$

für die Extinktion der Lipide (L) auf der Basis eines ersten Messwerts durch Bestimmung des Faktors  $p$  bei vorbestimmtem Exponenten  $q$  bei einer ersten Wellenlänge, bei der die nicht durch Lipide verursachte Extinktion vernachlässigbar ist, und des Bestimmens eines ersten Näherungswerts der Konzentration der zweiten Substanz auf der Basis eines zweiten Messwerts und Werten der Näherungskurve bei einer zweiten Wellenlänge.

5  
10 Gemäß einer vorteilhaften Ausführungsform umfasst das Verfahren weiterhin die Schritte des Berechnens eines Extinktionswerts bei einer dritten Wellenlänge auf der Basis des ersten Näherungswerts und Werten der Näherungskurve, des Ermitteln einer Abweichung des berechneten Extinktionswerts von einem  
15 dritten Messwert bei der dritten Wellenlänge, des Korrigierens der Näherungskurve auf der Basis der ermittelten Abweichung, und des Korrigierens des ersten Näherungswerts auf der Basis des zweiten Messwerts und Werten der korrigierten Näherungskurve.

20  
Gemäß einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform kann die Körperflüssigkeitsprobe weiterhin eine dritte Substanz enthalten, und es können weiterhin die Schritte des Bestimmens eines zweiten Näherungswerts der Konzentration einer dritten  
25 Substanz auf der Basis des zweiten Messwerts und Werten der Näherungskurve bei einer zweiten Wellenlänge sowie eines vierten Messwerts und Werten der Näherungskurve bei einer vierten Wellenlänge, und des Korrigierens des zweiten Näherungswerts auf der Basis des zweiten Messwerts, des vierten  
30 Messwerts und Werten der korrigierten Näherungskurve, wobei der Extinktionswert zusätzlich auf der Basis des zweiten Näherungswertes berechnet wird.

In einer bevorzugten Ausführungsform können die Schritte des  
35 Berechnens des Extinktionswerts, des Ermitteln der Abweichung und des Korrigierens der Näherungskurve, des ersten Näherungswerts und des zweiten Näherungswerts so lange iteriert

werden, bis die Abweichung unterhalb eines vorbestimmten Schwellwerts liegt.

Vorteilhafterweise kann die Körperflüssigkeitsprobe Blutserum  
5 oder Blutplasma umfassen. Weiterhin ist es vorteilhaft, aber nicht notwendig, wenn die zweite Substanz Hämoglobin und die dritte Substanz Bilirubin umfasst.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform liegt die erste Wellenlänge im Bereich zwischen 610 nm und 650 nm, die zweite Wellenlänge im Bereich zwischen 410 nm und 420 nm, die dritte Wellenlänge im Bereich zwischen 360 nm und 370 nm und die vierte Wellenlänge im Bereich zwischen 465 nm und 475 nm.  
10

Gemäß einer vorteilhaften Ausführungsform beträgt der vorbestimmte Schwellwert 0,01 E.  
15

Vorteilhafterweise kann das Korrigieren der Näherungskurve derart erfolgen, dass der erste Messwert auf der Näherungskurve liegt.  
20

Gemäß einer vorteilhaften Ausführungsform kann das Durchstrahlen der Körperflüssigkeitsprobe mithilfe von Laser- oder Leuchtdioden und das Erfassen der Vielzahl von Messwerten mithilfe eines photometrischen Sensors erfolgen.  
25

Die vorliegende Erfindung schafft in einer weiteren Ausführungsform ein System, z.B. ein Analysegerät, zum Bestimmen der Konzentrationen von Substanzen in einer Körperflüssigkeitsprobe, mit einer Messeinrichtung, welche dazu ausgelegt ist, Lipide und zweite Substanzen enthaltende Körperflüssigkeitsprobe mit einem Lichtstrahl bei einer Vielzahl von Lichtwellenlängen zu durchstrahlen, und eine Vielzahl von Messwerten der Extinktion der Körperflüssigkeitsprobe bei der Vielzahl von Wellenlängen zu erfassen, und einer Berechnungseinrichtung, welche dazu ausgelegt ist, eine potenzfunktionelle Näherungskurve der Form  
30  
35

$$E(\lambda) = p \cdot \lambda^{-q}$$

für die Extinktion der Lipide (L) auf der Basis eines ersten  
5 Messwerts durch Bestimmung des Faktors p bei vorbestimmtem  
Exponenten q bei einer ersten Wellenlänge, bei der die nicht  
durch Lipide verursachte Extinktion vernachlässigbar ist, zu  
berechnen, einen ersten Näherungswert der Konzentration der  
10 zweiten Substanz auf der Basis eines zweiten Messwerts und  
Werten der Näherungskurve bei einer zweiten Wellenlänge zu  
bestimmen, und einen Extinktionswert bei einer dritten Wel-  
lenlänge auf der Basis des ersten Näherungswerts und Werten  
der Näherungskurve zu berechnen.

15 Vorteilhafterweise ist die Berechnungseinrichtung weiter dazu  
ausgelegt, eine Abweichung des berechneten Extinktionswerts  
von einem dritten Messwert bei der dritten Wellenlänge zu er-  
mitteln, die Näherungskurve auf der Basis der ermittelten Ab-  
weichung zu korrigieren und den ersten Näherungswert auf der  
20 Basis des zweiten Messwerts und Werten der korrigierten Nähe-  
rungskurve zu korrigieren.

Vorteilhafterweise kann die Messeinrichtung Laser- oder  
Leuchtdioden und eine photometrische Sensoreinrichtung auf-  
25 weisen.

In einer bevorzugten Ausführungsform kann die Berechnungsein-  
richtung weiterhin dazu ausgelegt sein, einen zweiten Nähe-  
rungswert der Konzentration einer dritten Substanz auf der  
30 Basis des zweiten Messwerts und Werten der Näherungskurve bei  
einer zweiten Wellenlänge sowie eines vierten Messwerts und  
Werten der Näherungskurve bei einer vierten Wellenlänge zu  
bestimmen, und den zweiten Näherungswert auf der Basis des  
zweiten Messwerts und Werten der korrigierten Näherungskurve  
35 zu korrigieren, wobei der Extinktionswert zusätzlich auf der  
Basis des zweiten Näherungswertes berechnet wird.

Weitere Modifikationen und Variationen ergeben sich aus den Merkmalen der abhängigen Ansprüche.

Kurze Beschreibung der Figuren

5

Verschiedene Ausführungsformen und Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung werden nun in Bezug auf die beiliegenden Zeichnungen genauer beschrieben.

10 Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung eines Diagramms mit Extinktionskurven von Lipiden gemäß einer Ausführungsform der Erfindung;

15 Fig. 2 zeigt eine schematische Darstellung eines Diagramms mit Extinktionskurven von Körperflüssigkeitsproben gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung;

20 Fig. 3 zeigt eine schematische Darstellung eines Verfahrens zum Bestimmen der Konzentrationen von Substanzen in einer Körperflüssigkeitsprobe gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung;

25 Fig. 4 zeigt eine schematische Darstellung eines Diagramms mit Extinktionskurven von Körperflüssigkeitsproben gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung;

30 Fig. 5 zeigt eine schematische Darstellung eines Diagramms mit Extinktionskurven von Körperflüssigkeitsproben gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung;  
und

35 Fig. 6 zeigt eine schematische Darstellung eines Systems zum Bestimmen der Konzentrationen von Substanzen in einer Körperflüssigkeitsprobe gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung zeigt.

Die beschriebenen Ausgestaltungen und Weiterbildungen lassen sich, sofern sinnvoll, beliebig miteinander kombinieren. Weitere mögliche Ausgestaltungen, Weiterbildungen und Implementierungen der Erfindung umfassen auch nicht explizit genannte  
5 Kombinationen von zuvor oder im Folgenden bezüglich der Ausführungsbeispiele beschriebenen Merkmale der Erfindung.

Die beiliegenden Zeichnungen sollen ein weiteres Verständnis der Ausführungsformen der Erfindung vermitteln. Sie veranschaulichen Ausführungsformen und dienen im Zusammenhang mit  
10 der Beschreibung der Erklärung von Prinzipien und Konzepten der Erfindung. Andere Ausführungsformen und viele der genannten Vorteile ergeben sich im Hinblick auf die Zeichnungen. Die Elemente der Zeichnungen sind nicht notwendigerweise maßstabsgetreu zueinander gezeigt. Gleiche Bezugszeichen bezeichnen dabei gleiche oder ähnlich wirkende Komponenten.  
15

Körperflüssigkeitsproben im Sinne der vorliegenden Erfindung können alle Proben biologischen Ursprungs sein, welche flüssige Konsistenz aufweisen und eine Vielzahl von biologisch  
20 aktiven Substanzen in verschiedenen Konzentrationen aufweisen. Beispielsweise können Körperflüssigkeitsproben Blutserum, Blutplasma, Blut, Urin, Lymphflüssigkeit, Gallenflüssigkeit oder ähnliche Flüssigkeiten aufweisen.

25 Photometrische Messwerte im Sinne der vorliegenden Erfindung können Messwerte sein, welche mit photometrischen Messeinrichtungen und zugehörigen Lichtquellen, insbesondere Lasern, Laserdioden, Leuchtdioden oder dergleichen aufgenommen werden  
30 können. Messeinrichtungen umfassen beispielsweise CCD-Sensoren, CMOS-Sensoren, Photosensoren oder ähnliche Einrichtungen, welche dazu geeignet sind, die Intensität eines Lichtstrahls wellenlängenabhängig zu erfassen.

35 Lipide im Sinne der vorliegenden Anmeldung können alle im Wesentlichen hydrophoben organischen Verbindungen umfassen, insbesondere im menschlichen oder tierischen Organismus vor-

kommende Verbindungen. Lipide im Sinne der Erfindung umfassen dabei insbesondere Fette bzw. Triglyceride bzw. Triacylglycerine, welche im menschlichen Körper vorkommen können.

5 Extinktionskurven und Extinktionswerte im Sinne der vorliegenden Erfindung können dimensionslose Größen sein, welche ein wellenlängenabhängiges Maß für die Opazität von Körperflüssigkeitsproben gegenüber dem Durchgang von Lichtstrahlen im sichtbaren, infraroten und/oder ultravioletten Wellenlängenbereich angeben. Es kann gleichermaßen auch möglich sein, dass Extinktionswerte im Bezug auf eine Einheitsdicke einer Messzelle oder Küvette, in der Körperflüssigkeitsproben während des Durchtritts von Lichtstrahlen zur Erfassung von Intensitätsmesswerten gehalten werden, angegeben werden. In  
10 diesem Fall können die Extinktionswerte eine Dimension von [1/cm] aufweisen. In jedem Fall sind die angegebenen Extinktionswerte der nachfolgenden Ausführungsformen nur beispielhafter Natur und von der Messapparatur, der Probenbeschaffenheit und der Probenzusammensetzung abhängig. Extinktionswerte werden im Folgenden jeweils mit Absorptionswerten gleichgesetzt, obwohl es dem Fachmann klar ist, dass bei dieser Betrachtung Diffraktion, Streuung und Reflexion zwar zu den Extinktionswerten beitragen, gegenüber der Absorption jedoch im betrachteten Wellenlängenbereich im Wesentlichen vernachlässigbar sind.  
15  
20  
25

In Körperflüssigkeitsproben können häufig Hämoglobin, Bilirubin und Lipide, insbesondere Triacylglycerine (Triglyceride), enthalten sein. Zur Bestimmung der Hämoglobin- und Bilirubinkonzentrationen mittels photospektrometrischer Untersuchungsmethoden ist es wichtig, den Lipidanteil zu bestimmen.  
30

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung eines Diagramms mit Extinktionskurven von Lipiden in einem Wellenlängenbereich zwischen etwa 340 nm und 620 nm. Die Extinktionskurven L1, L2 und L3 bilden jeweils künstlich angesetzte Lipid-Emulsionen (Intralipid, Lipovenös®) in den Lipid-  
35

Konzentrationen 60 mg/dl, 180 mg/dl bzw. 300 mg /dl. Zunächst lässt sich erkennen, dass die Extinktionswerte insgesamt mit der Lipidkonzentration ansteigen. Weiterhin lässt sich erkennen, dass im roten sichtbaren Spektralbereich um 600 nm bis  
5 620 nm die Extinktion für alle Lipid-Konzentrationen geringer ist als die Extinktion im blauen sichtbaren bzw. ultravioletten Spektralbereich. Die Lipidkurven L1, L2 und L3 sind in Fig. 1 jeweils durch eine Potenzfunktion

$$10 \quad E(\lambda) = p \cdot \lambda^{-q} \quad (2)$$

angenähert worden, so dass sich die Näherungskurven P1, P2 und P3 mit jeweils angepassten Näherungsparametern p und q ergeben. Die Näherungsparameter p und q werden direkt aus den  
15 gemessenen Extinktionen berechnet und ergeben somit Erfahrungswerte für typische Größenordnungen der Parameter p und q, die im im Folgenden beschriebenen Verfahren zur Anwendung kommen können.

20 Für die Lipidkurve L1 der niedrigsten Konzentration stimmt die Potenzkurve P1 gut mit dem tatsächlichen Extinktionsverlauf überein. Für höhere Konzentrationen jedoch können die Näherungskurven P2 und P3 die jeweiligen Extinktionsverläufe L2 bzw. L3 nur weniger adäquat abbilden, insbesondere im  
25 blauen Wellenlängenbereich zwischen etwa 340 nm und 470 nm. Die Extinktionsverläufe L2 und L3 bilden in diesem Bereich ein gewisses Extinktionsplateau aus, was durch Mehrfachstreuung verursacht wird. Die Mehrfachstreuung kommt jedoch nur bei den in Fig. 1 dargestellten künstlichen Lipiden vor. Im  
30 Anwendungsfall kommen jedoch nur natürliche Lipide vor, bei denen es nicht zu solchen Mehrfachstreuungen kommt. Daher ermöglicht eine potenzfunktionelle Näherung trotz der in Fig. 1 dargestellten Abweichungen im tatsächlichen Anwendungsfall  
gute Resultate, gerade im Vergleich beispielsweise zu lokalen  
35 linearen Näherungen.

Fig. 2 zeigt eine schematische Darstellung eines Diagramms mit Extinktionskurven von Körperflüssigkeitsproben, insbesondere von Blutserum oder Blutplasma, im Wellenlängenbereich zwischen 340 nm und 660 nm. Blutserum oder Blutplasma können als emulgierte Substanzen Hämoglobin (H), Bilirubin (I) und Lipide (L) umfassen. Eine Bestimmung der Konzentration dieser Substanzen in der Körperflüssigkeitsprobe wird daher häufig auch als HIL-Check bezeichnet.

Die Extinktionskurve HIL gibt einen beispielhaften schematischen Verlauf für die wellenlängenabhängige Extinktion von Körperflüssigkeitsproben mit typischen Konzentrationen von Hämoglobin, Bilirubin und Lipiden wider. Die Extinktionskurve kann dabei in einen Hämoglobinanteil H und einen kombinierten Lipid-/Bilirubinanteil IL aufgeteilt werden, deren geschätzte Extinktionskurven als gestrichelte Kurven in Fig. 2 dargestellt sind. Der reine Lipidanteil L ist ebenfalls als gestrichelte Kurve dargestellt. Die jeweiligen Extinktionen überlagern sich additiv.

20

In einem roten Wellenlängenbereich zwischen etwa 610 nm und 650 nm ist die durch Hämoglobin und Bilirubin verursachte Extinktion vernachlässigbar. Die Extinktion wird somit hier weitgehend durch Lipide verursacht. Daher kann mit einer ersten Messung bei einer ersten Wellenlänge zwischen 610 nm und 650 nm, beispielsweise bei 620 nm oder 645 nm ein erster Messwert  $E_4$  ermittelt werden, mit welchem über die Abhängigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes die molare Lipidkonzentration  $c_L$  [L/(mol\*cm)] in einer ersten Näherung bestimmt werden kann:

30

$$c_L = E_4 / \epsilon_{L4}, \quad (3)$$

wobei  $\epsilon_{L4}$  der molare Extinktionskoeffizient von Triacylglycerinen bei der ersten Wellenlänge ist.

35

Vorzugsweise kann die Konzentration auch mit Hilfe eines gewichtsspezifischen Extinktionskoeffizienten bestimmt werden. Dazu wird in der Lambert-Beerschen Formel (Formel 1) die Weglänge  $d$  mit 1 mm gleichgesetzt, und aus dem Produkt des mola-  
5 ren Extinktionskoeffizienten  $\varepsilon_{\text{mol}}$  und der Schichtdicke der Messzelle  $d$  wird der gewichtsspezifische Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  bestimmt. Dies ermöglicht eine Bestimmung der Konzentration der Substanz in [mg/dL].

10 In weiteren Messungen können Messwerte  $E_2$  und  $E_3$  erfasst werden, welche in Wellenlängenbereichen liegen, in denen Extinktionsmaxima von Hämoglobin beziehungsweise Bilirubin liegen. Beispielsweise kann der Messwert  $E_2$  in einem Wellenlängenbereich zwischen 410 nm und 420 nm, dem Maximum der Hämoglobi-  
15 nextinktion, insbesondere bei etwa 415 nm erfasst werden. Der Messwert  $E_3$  kann beispielsweise in einem Wellenlängenbereich zwischen 465 nm und 475 nm, dem Maximum der Bilirubinextinktion, insbesondere bei etwa 470 nm erfasst werden. Der Messwert  $E_2$  setzt sich aus Extinktionsanteilen zusammen, die Hämoglobin ( $E_{H_2}$ ), Bilirubin ( $E_{I_2}$ ) und Lipiden ( $E_{L_2}$ ) zugeschrieben  
20 werden können:

$$E_2 = E_{H_2} + E_{I_2} + E_{L_2} . \quad (4)$$

25 Gleichermaßen setzt sich der Messwert  $E_3$  aus Extinktionsanteilen zusammen, die Hämoglobin ( $E_{H_3}$ ), Bilirubin ( $E_{I_3}$ ) und Lipiden ( $E_{L_3}$ ) zugeschrieben werden können:

$$E_3 = E_{H_3} + E_{I_3} + E_{L_3} . \quad (5)$$

30

Schließlich kann ein Messwert  $E_1$  in einem Wellenlängenbereich erfasst werden, der als Kontrollbereich dienen kann, beispielsweise in einem Bereich zwischen 360 nm und 370 nm, insbesondere bei etwa 365 nm. Der Messwert  $E_1$  setzt sich aus Extinktionsanteilen zusammen, die Hämoglobin ( $E_{H_1}$ ), Bilirubin  
35 ( $E_{I_1}$ ) und Lipiden ( $E_{L_1}$ ) zugeschrieben werden können:

$$E_1 = E_{H_1} + E_{I_1} + E_{L_1} . \quad (6)$$

Fig. 3 zeigt nun eine schematische Darstellung eines Verfahrens 30 zum Bestimmen der Konzentrationen von Substanzen in einer Körperflüssigkeitsprobe, insbesondere von Hämoglobin, Bilirubin und Lipiden in einer Blutserum- oder Blutplasmaprobe.

In einem ersten Schritt 31 können Messwerte  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$  und  $E_4$ , wie im Zusammenhang mit Fig. 2 erläutert, erfasst werden.

In einem zweiten Schritt 32 können erste Näherungsparameter  $p_0$  und  $q_0$  für eine erste Näherungskurve  $L_0$  für die durch Lipide verursachte Extinktion mithilfe einer Regressionsanalyse bestimmt werden. Diese kann wie im Zusammenhang mit Fig. 2 erläutert, analog Gleichung (2) die Form

$$E(\lambda) = p \cdot \lambda^{-q}$$

haben. Der einzige Messwert  $E_4$  kann selbstverständlich in Schritt 32 noch nicht zu einer Bestimmung beider Variablen  $p$  und  $q$  dienen. Daher kann der Exponent  $q_0$  anhand einer auf den in Fig. 1 dargestellten Referenzwerten basierenden Schätzung gebildet werden. Der Exponent  $q_0$  kann demnach auf Erfahrungswerten basierend vorbestimmt werden. Da wie im Zusammenhang mit Fig. 2 beschrieben bei der ersten Wellenlänge im Bereich von 610 bis 650 nm die Extinktion durch andere Stoffe außer Lipiden vernachlässigt werden kann, kann dann bei gegebenem Exponent  $q_0$  gemäß den Gleichungen (1), (2) und (3) der Koeffizient  $p_0$  über den Messwert  $E_4$  bei der ersten Wellenlänge bestimmt werden. Die so ermittelte Näherungskurve mit den Parametern  $p_0$  und  $q_0$  kann eine erste Näherung für den Extinktionsverlauf der Extinktion von Lipiden in der Probe wiedergeben. Hierzu kann für alle Wellenlängen, in denen in Schritt 31 weitere Messwerte erfasst worden sind, in Schritt 33a der jeweilige Extinktionsanteil  $E_{L1}$ ,  $E_{L2}$ ,  $E_{L3}$  und  $E_{L4}$  (=  $E_4$ ), der Lipiden berechnet werden.

Wie sich in Fig. 4 erkennen lässt, ergibt sich dadurch eine erste Näherungskurve  $L_0$ , welche bereits eine gute Näherung an die tatsächliche Lipidextinktion bietet. Gemäß Fig. 1 kann die Näherungskurve  $L_0$  insbesondere in einem blauen bzw. ultraviolett Spektralbereich flacher verlaufen als der tatsächliche Extinktionsverlauf für Lipide.

In den Schritten 34 und 35 können dann erste Näherungswerte für die Konzentrationen von Hämoglobin ( $c_H$ ) und Bilirubin ( $c_I$ ) auf der Basis der Messwerte  $E_2$  und  $E_3$ , beispielsweise bei den Wellenlängen 415 nm und 470 nm, bestimmt werden:

$$c_I = \frac{E_3 - c_H \cdot \varepsilon_{H3} - E_{L3}}{\varepsilon_{I3}} \quad (7)$$

15

$$c_H = \frac{E_2 - c_I \cdot \varepsilon_{I2} - E_{L2}}{\varepsilon_{H2}} \quad (8)$$

20

wobei  $\varepsilon_{H2}$ ,  $\varepsilon_{H3}$ ,  $\varepsilon_{I2}$  und  $\varepsilon_{I3}$  die jeweiligen Extinktionskoeffizienten von Hämoglobin (H) und Bilirubin (I) bei den Wellenlängen der Messwerte  $E_2$  und  $E_3$  sind. Die Extinktionskoeffizienten können dabei vorab durch Referenzmessungen bestimmt werden, oder aus einem Speicher, in dem Referenzwerte abgelegt sind, für die Berechnungen abgerufen werden.

25

Zur Ermittlung der beiden Konzentrationen  $c_I$  und  $c_H$  kann das lineare Gleichungssystem der beiden Gleichungen (7) und (8) gelöst werden, so dass sich für die Konzentration von Hämoglobin (H) die Formel

30

$$c_H = \frac{E_3 - E_{L3} - \frac{(E_2 - E_{L2}) \cdot \varepsilon_{I3}}{\varepsilon_{I2}}}{\varepsilon_{H3} - \frac{\varepsilon_{H2} \cdot \varepsilon_{I3}}{\varepsilon_{I2}}} \quad (9)$$

ergibt. Hierbei können die Extinktionswerte für die Lipide  $E_{L2}$  und  $E_{L3}$  gemäß Gleichung (2) mit der Näherungskurve  $L_0$  bestimmt werden. Somit ergibt sich ein erster Näherungswert für die Konzentration  $c_H$  von Hämoglobin. Dieser erste Näherungswert für die Konzentration  $c_H$  kann dann zur Bestimmung des ersten Näherungswerts für die Konzentration  $c_I$  von Bilirubin in Gleichung (7) eingesetzt werden. Hierdurch ergeben sich bereits erste, gute Näherungswerte  $c_H$ ,  $c_I$  und  $c_L$  für die Konzentrationen von Hämoglobin, Bilirubin und Lipiden, die auf Basis der Potenzfunktion gemäß Gleichung (2) und dem oben beschriebenen Gleichungssystem mit den ersten Näherungswerten für die Parameter  $p_0$  und  $q_0$  ermittelt wurden.

Die Näherungswerte können nun aber iterativ weiter verbessert werden, wie im folgenden beschrieben wird. In einem Schritt 36 kann ein Extinktionswert  $E_{HIL}$  ermittelt werden, welcher einem Näherungswert für die gesamte Extinktion bei einer Wellenlänge zwischen 360 nm und 370 nm, beispielsweise 365 nm, entspricht, d.h. in einem Bereich, in dem eine höhere Abweichung der tatsächlichen Lipidextinktion von der Näherungskurve zu erwarten ist:

$$E_{HIL} = c_H \cdot \epsilon_{H1} + c_I \cdot \epsilon_{I1} + E_{L1} \quad (10)$$

25

Die Konzentrationen  $c_H$  und  $c_I$  wurden oben bestimmt, der Wert  $E_{L1}$  ergibt sich wieder aus Gleichung (2) mit den Parametern  $p_0$  und  $q_0$ .

In einem Schritt 37 kann dann ein Vergleich zwischen dem Wert  $E_{HIL}$  und dem tatsächlichen Messwert  $E1$  bei dieser Wellenlänge durchgeführt werden, um eine Abweichung

$$\Delta E = E1 - E_{HIL} \quad (11)$$

35

zu erhalten. Wenn die Abweichung  $\Delta E$  größer als ein vorbestimmter Schwellwert, beispielsweise 10 mE ist, kann bestimmt

werden, dass die ermittelte Näherungskurve  $L_0$  für die Konzentrationen der Lipide nicht hinreichend genau genug ermittelt worden ist. In diesem Fall kann in einem Schritt 38 ein Korrigieren der Näherungskurve  $L_0$  erfolgen. Hierzu kann der berechnete Extinktionswert  $E_{L1}$ , welcher den Extinktionsanteil von Lipiden bei der Wellenlänge 365 nm beschreibt, um einen prozentualen Anteil der Abweichung  $\Delta E$  korrigiert werden. Beispielsweise kann zu dem Extinktionswert  $E_{L1}$  die Hälfte des Wertes der Abweichung  $\Delta E$  addiert werden. Auf der Basis des korrigierten Extinktionswertes  $E_{L1}$  kann dann eine korrigierte Näherungskurve  $L_k$  mit den Parametern  $p_k$  und  $q_k$  bestimmt werden:

$$q_k = \frac{\ln E4 - \ln(E_{L1} + \Delta E/2)}{\ln \lambda(E4) - \ln \lambda(E1)} \quad (12)$$

15

$$p_k = \frac{E4}{\lambda(E4)^{-q_k}} \quad (13)$$

Die Gleichungen (12) und (13) ergeben sich dabei durch Einsetzen der Werte von  $E4$  und dem korrigierten Wert  $E1 + \Delta E/2$  in Gleichung (2). Dies bedeutet, dass die Näherungskurve  $L_0$  derart korrigiert werden kann, dass der Messwert  $E4$ , beispielsweise bei der Wellenlänge von 645 nm, weiterhin auf der korrigierten Näherungskurve  $L_k$  liegt, das heißt, der Messwert  $E4$  wird als Ankerpunkt für die Näherungskurve verwendet.

25

Fig. 5 zeigt eine schematische Darstellung des Diagramms aus Fig. 4, in welchem zusätzlich zu der ersten Näherungskurve  $L_0$  eine korrigierte Näherungskurve  $L_k$  dargestellt ist. Die korrigierte Näherungskurve  $L_k$  hat insbesondere im blauen bzw. ultravioletten Wellenlängenbereich einen steileren Verlauf als die erste Näherungskurve  $L_0$  und ist somit besser geeignet, den tatsächlichen Extinktionsanteil der in der Probe vorhandenen Lipide abzubilden.

30

In Schritt 33b können dann analog zu den Berechnungen in Schritt 33a die jeweiligen Extinktionsanteile  $E_{L1}$ ,  $E_{L2}$ ,  $E_{L3}$  und  $E_{L4}$  (=  $E_4$ ), der Lipide auf der Basis der korrigierten Näherungskurve  $L_k$  errechnet werden. Das Verfahren kann so lange mit den Schritten 34, 35, 36, 37, 38 und 33b iteriert werden, bis in Schritt 37 bestimmt wird, dass die Abweichung einen vorbestimmten Schwellwert unterschreitet. In diesem Fall können in Schritt 39 die korrigierten Näherungswerte für die Konzentrationen der Substanzen in der Körperflüssigkeitsprobe ausgegeben werden.

In Fig. 5 ist hierzu beispielhaft eine in einem nachfolgenden Iterationsschritt korrigierte Näherungskurve  $L_{k+1}$  dargestellt, welche gegenüber der korrigierten Näherungskurve  $L_k$  eine bessere Annäherung an den tatsächlichen Extinktionsanteil der in der Probe vorhandenen Lipide darstellt.

Fig. 6 zeigt eine schematische Darstellung eines Systems 1 zum Bestimmen der Konzentrationen von Substanzen in einer Körperflüssigkeitsprobe, insbesondere zum Durchführen des in Fig. 3 gezeigten Verfahrens 30. Das System 1 umfasst eine Messeinrichtung 2, eine Berechnungseinrichtung 3, einen Speicher 4 und eine Ausgabereinrichtung 5.

Die Messeinrichtung 2 kann dazu ausgelegt sein, eine erste und zweite Substanzen enthaltende Körperflüssigkeitsprobe mit einem Lichtstrahl bei einer Vielzahl von Lichtwellenlängen zu durchstrahlen, und eine Vielzahl von Messwerten der Extinktion der Körperflüssigkeitsprobe bei der Vielzahl von Wellenlängen zu erfassen. Dazu kann die Messeinrichtung 2 beispielsweise Leucht- oder Laserdioden und entsprechende photometrische Sensoreinrichtungen aufweisen.

Die Berechnungseinrichtung 3 kann dazu ausgelegt sein, die Schritte 32, 33a, 34, 35, 36, 37, 38, 33b und 39 des Verfahrens 30 in Fig. 3 durchzuführen. Insbesondere können die ermittelten Näherungswerte für die Konzentrationen der Substan-

zen über die Ausgabeeinrichtung 5 an einen Nutzer des Systems 1 ausgegeben werden.

Der Speicher 4 kann dazu ausgelegt sein, vorbestimmte Werte  
5 für den Schwellwert und/oder Extinktionskoeffizienten zu  
speichern, die die Berechnungseinrichtung 2 bei Bedarf abrufen  
kann.

**Ansprüche**

1. Verfahren zum Bestimmen der Konzentrationen von Lipiden  
5 (L) und mindestens einer weiteren Substanz (H) in einer  
Körperflüssigkeitsprobe, mit den Schritten:

a) Durchstrahlen (31) der Körperflüssigkeitsprobe mit  
Licht bei einer Vielzahl von Wellenlängen und

10 b) Erfassen einer Vielzahl von Messwerten der Extinkti-  
on der Körperflüssigkeitsprobe bei der Vielzahl von  
Wellenlängen;

gekennzeichnet durch die Schritte:

15 c) Erfassen eines ersten Messwertes (E4) bei einer ers-  
ten Wellenlänge, bei der die nicht durch Lipide ver-  
ursachte Extinktion vernachlässigbar ist, und Be-  
stimmen der Konzentration ( $c_L$ ) der Lipide (L) durch  
Division des Messwerts (E4) mit dem für Lipide (L)  
spezifischen Extinktionskoeffizienten;

20 d) Berechnen (32) einer potenzfunktionellen Näherungs-  
kurve ( $L_0$ ) der Form

$$E(\lambda) = p \cdot \lambda^{-q}$$

25 für die Extinktion der Lipide (L) auf der Basis des  
ersten Messwerts (E4) durch Bestimmung des Faktors p  
bei vorbestimmtem Exponenten q;

30 e) Bestimmen (34) eines ersten Näherungswerts ( $c_H$ ) der  
Konzentration der zweiten Substanz (H) auf der Basis  
eines zweiten Messwerts (E2) und Werten der Nähe-  
rungskurve ( $L_0$ ) bei einer zweiten Wellenlänge;

2. Verfahren nach Anspruch 1, mit den Schritten:

35 f) Berechnen eines Extinktionswerts ( $E_{HLL}$ ) bei einer  
dritten Wellenlänge auf der Basis des ersten Nähe-  
rungswerts ( $c_H$ ) und Werten der Näherungskurve ( $L_0$ );

- g) Ermitteln (36) einer Abweichung ( $\Delta E$ ) des berechneten Extinktionswerts ( $E_{HIL}$ ) von einem dritten Messwert ( $E_1$ ) bei der dritten Wellenlänge;
- h) Korrigieren (38) der Näherungskurve ( $L_k$ ) auf der Basis der ermittelten Abweichung ( $\Delta E$ ); und
- 5 i) Bestimmen der Konzentration ( $c_H$ ) der zweiten Substanz (H) durch Korrigieren des ersten Näherungswerts ( $c_H$ ) auf der Basis des zweiten Messwerts ( $E_2$ ) und Werten der korrigierten Näherungskurve ( $L_k$ ).
- 10
3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei ferner eine dritte Substanz (I) in der Körperflüssigkeitsprobe bestimmt wird, ferner mit den Schritten:
- 15 j) Bestimmen (35) eines zweiten Näherungswerts ( $c_I$ ) der Konzentration der dritten Substanz (I) auf der Basis des zweiten Messwerts ( $E_2$ ) und Werten der Näherungskurve ( $L_0$ ) bei der zweiten Wellenlänge sowie eines vierten Messwerts ( $E_3$ ) und Werten der Näherungskurve ( $L_0$ ) bei einer vierten Wellenlänge; und
- 20 k) Bestimmen der Konzentration ( $c_I$ ) der dritten Substanz (I) durch Korrigieren des zweiten Näherungswerts ( $c_I$ ) auf der Basis des zweiten Messwerts ( $E_2$ ), des vierten Messwerts ( $E_3$ ) und Werten der korrigierten Näherungskurve ( $L_k$ ),
- 25 wobei der Extinktionswert ( $E_{HIL}$ ) zusätzlich auf der Basis des zweiten Näherungswertes ( $c_I$ ) berechnet wird.
4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die Schritte des Berechnens des Extinktionswerts, des Ermitteln der Abweichung
- 30 und des Korrigierens der Näherungskurve, des ersten Näherungswerts und des zweiten Näherungswerts so lange iteriert werden, bis die Abweichung ( $\Delta E$ ) unterhalb eines vorbestimmten Schwellwerts liegt.
- 35 5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die zweite Substanz (H) Hämoglobin und die dritte Substanz (I) Bilirubin umfasst.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 5, wobei die erste Wellenlänge im Bereich zwischen 610 nm und 650 nm, die zweite Wellenlänge im Bereich zwischen 410 nm und 420 nm, die dritte Wellenlänge im Bereich zwischen 360 nm und 370 nm und die vierte Wellenlänge im Bereich zwischen 465 nm und 475 nm liegt.
7. Verfahren nach Anspruch 4, wobei der vorbestimmte Schwellwert 10 mE beträgt.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 7, wobei das Korrigieren der Näherungskurve derart erfolgt, dass der erste Messwert (E4) auf der Näherungskurve ( $L_0$ ;  $L_k$ ) liegt.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei das Durchstrahlen der Körperflüssigkeitsprobe mithilfe von Laser- oder Leuchtdioden und das Erfassen der Vielzahl von Messwerten (E1; E2; E3; E4) mithilfe eines photometrischen Sensors erfolgt.
10. System (1) zum Bestimmen der Konzentrationen von Substanzen in einer Körperflüssigkeitsprobe, mit:
- einer Messeinrichtung (2), welche dazu ausgelegt ist, eine Körperflüssigkeitsprobe mit Lichtstrahlen mit einer Vielzahl von Wellenlängen zu durchstrahlen, und eine Vielzahl von Messwerten der Extinktion der Körperflüssigkeitsprobe bei der Vielzahl von Wellenlängen zu erfassen; und
  - einer Berechnungseinrichtung (3), welche dazu ausgelegt ist, eine potenzfunktionelle Näherungskurve ( $L_0$ ) der Form
$$E(\lambda) = p \cdot \lambda^{-q}$$
für die Extinktion der Lipide (L) auf der Basis eines ersten Messwerts durch Bestimmung des Faktors p

bei vorbestimmtem Exponenten  $q$  bei einer ersten Wellenlänge, bei der die nicht durch Lipide verursachte Extinktion vernachlässigbar ist, zu berechnen, und einen ersten Näherungswert ( $c_H$ ) der Konzentration einer zweiten Substanz (H) auf der Basis eines zweiten Messwerts und Werten der Näherungskurve bei einer zweiten Wellenlänge zu bestimmen.

- 5
- 10 11. System (1) nach Anspruch 10, wobei die Berechnungseinrichtung (3) dazu ausgelegt ist, einen Extinktionswert ( $E_{HIL}$ ) bei einer dritten Wellenlänge auf der Basis des ersten Näherungswerts ( $c_H$ ) und Werten der Näherungskurve ( $L_0$ ) zu berechnen, eine Abweichung ( $\Delta E$ ) des berechneten Extinktionswerts ( $E_{HIL}$ ) von einem dritten Messwert ( $E_1$ ) bei der dritten Wellenlänge zu ermitteln, die Näherungskurve ( $L_k$ ) auf der Basis der ermittelten Abweichung ( $\Delta E$ ) zu korrigieren und den ersten Näherungswert ( $c_H$ ) auf der Basis des zweiten Messwerts ( $E_2$ ) und Werten der korrigierten Näherungskurve ( $L_k$ ) zu korrigieren.
- 15
- 20
12. System (1) nach Anspruch 11, wobei die Messeinrichtung (2) Laser- oder Leuchtdioden und eine photometrische Sensoreinrichtung aufweist.
- 25
13. System (1) nach einem der Ansprüche 11 und 12, wobei die Berechnungseinrichtung (3) weiterhin dazu ausgelegt ist, einen zweiten Näherungswert der Konzentration einer dritten Substanz (I) auf der Basis des zweiten Messwerts und Werten der Näherungskurve bei einer zweiten Wellenlänge sowie eines vierten Messwerts und Werten der Näherungskurve bei einer vierten Wellenlänge zu bestimmen, und den zweiten Näherungswert auf der Basis des zweiten Messwerts und Werten der korrigierten Näherungskurve zu korrigieren, wobei der Extinktionswert zusätzlich auf der Basis des zweiten Näherungswertes berechnet wird.
- 30
- 35

14. System (1) nach Anspruch 13, wobei die Körperflüssigkeitsprobe Blutserum oder Blutplasma, die zweite Substanz (H) Hämoglobin und die dritte Substanz (I) Bilirubin umfasst.

5

15. System (1) nach einem der Ansprüche 13 und 14, wobei die erste Wellenlänge im Bereich zwischen 610 nm und 650 nm, die zweite Wellenlänge im Bereich zwischen 410 nm und 420 nm, die dritte Wellenlänge im Bereich zwischen 360 nm und 370 nm und die vierte Wellenlänge im Bereich zwischen 465 nm und 475 nm liegt.

10

FIG 1

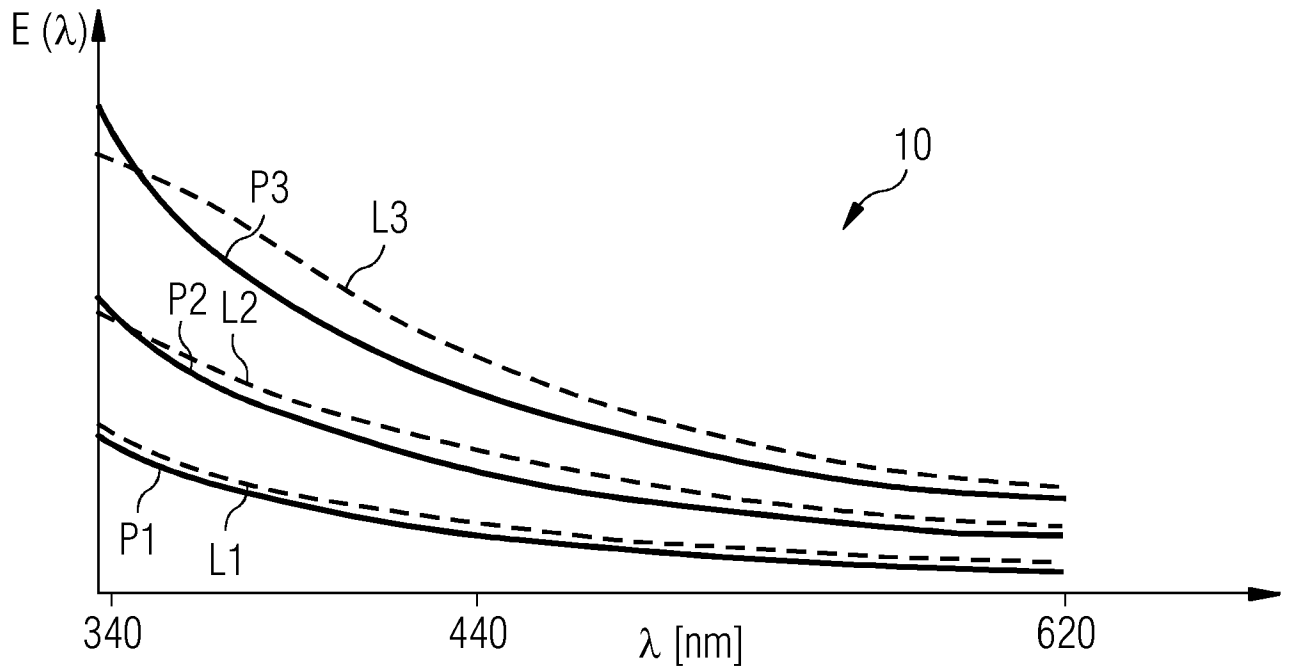


FIG 2

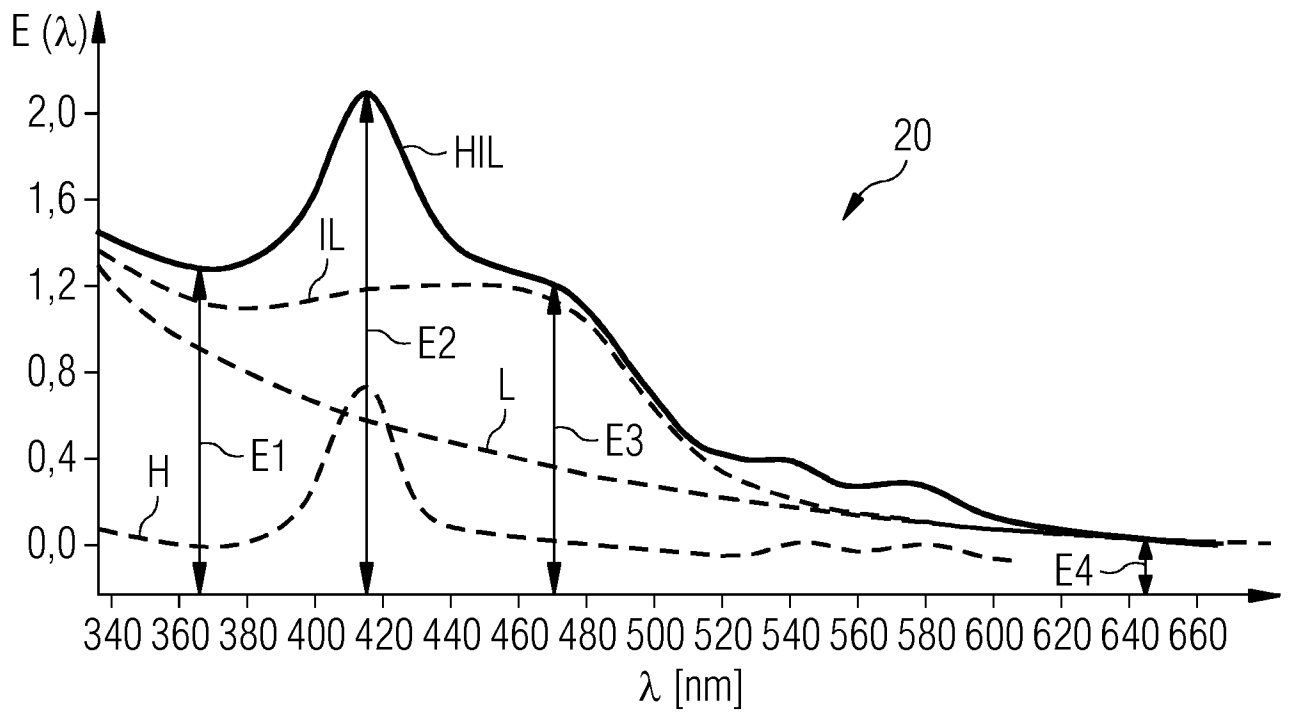


FIG 3

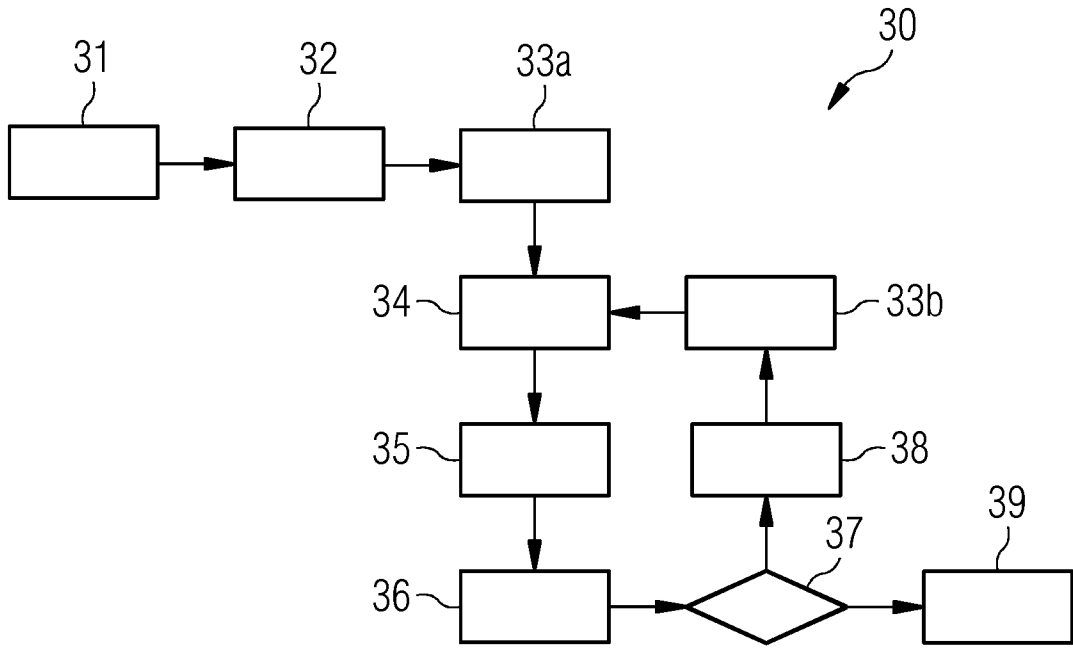


FIG 4

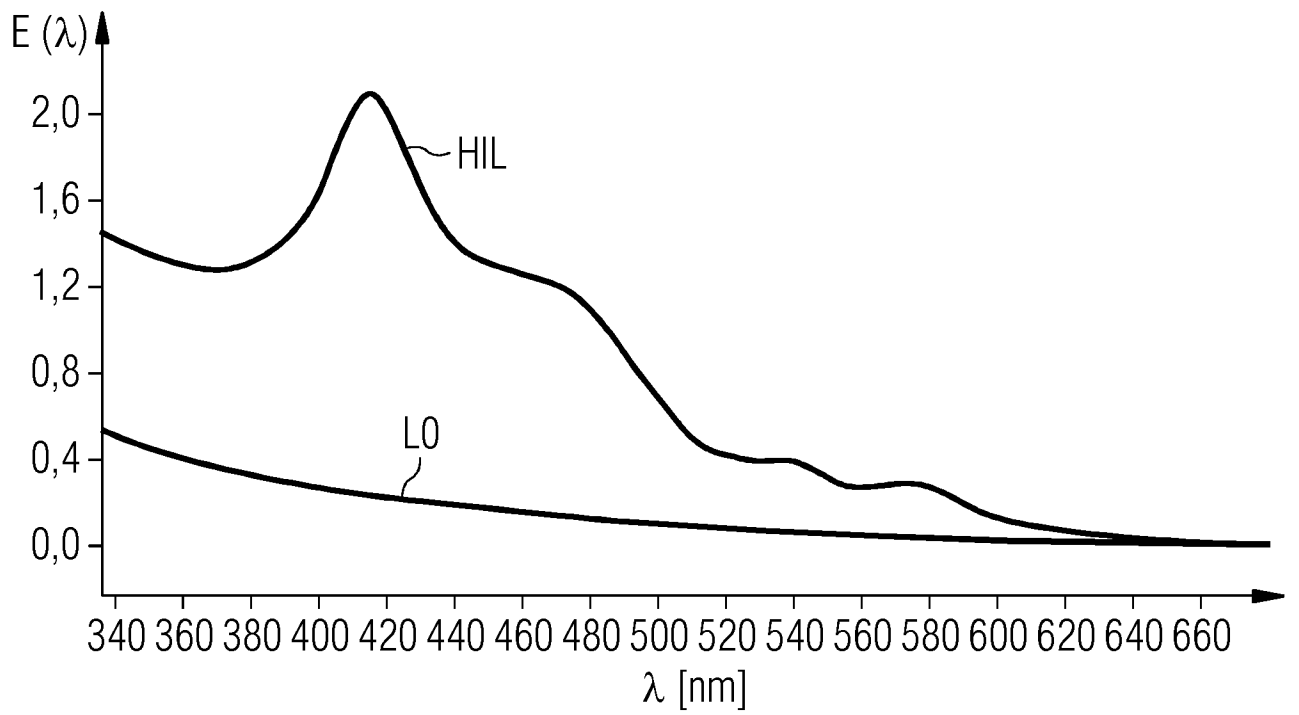


FIG 5

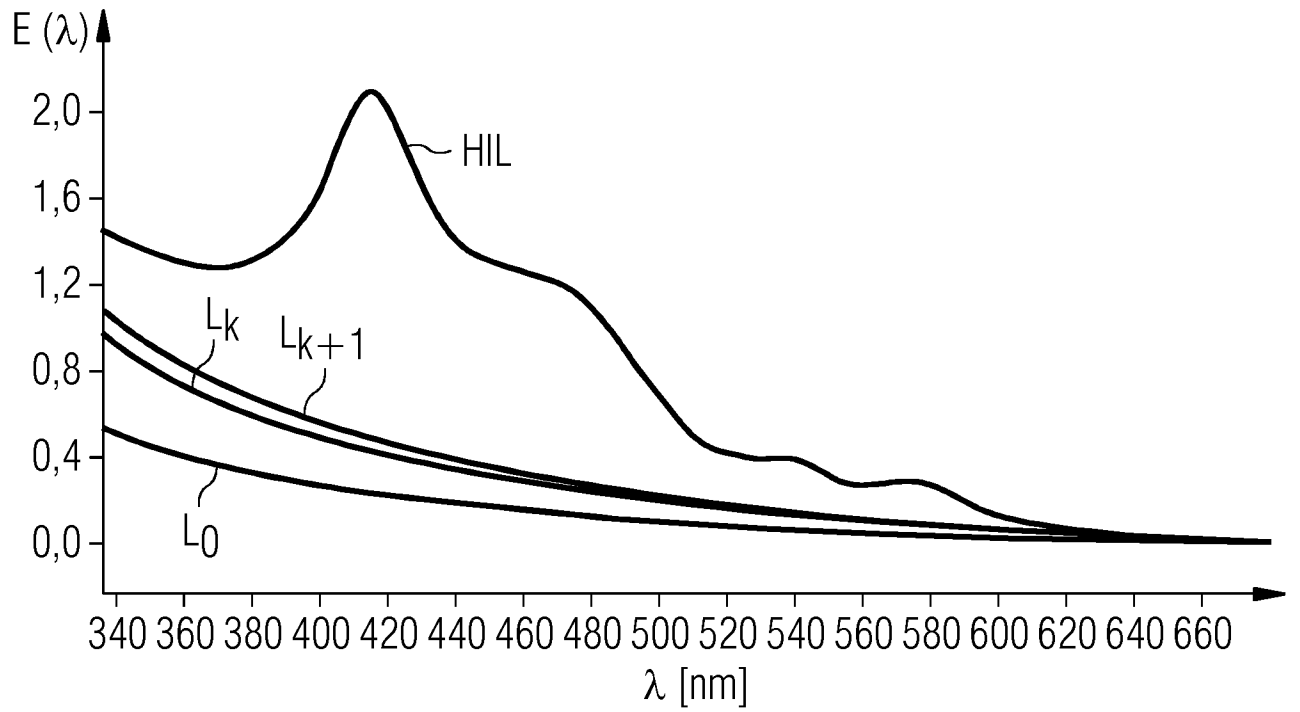
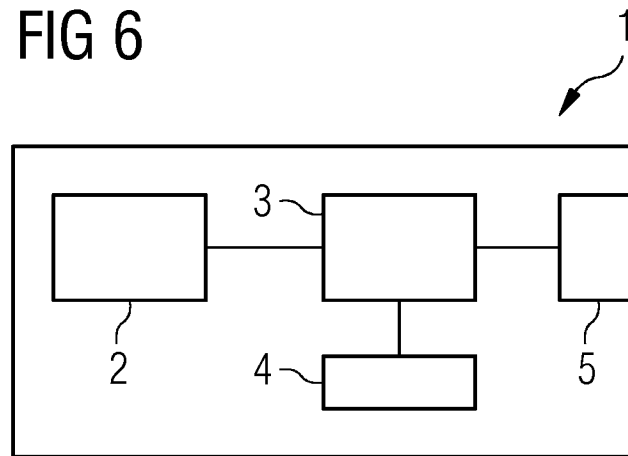


FIG 6



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2012/063864

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. G01N21/27  
ADD.  
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED  
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 059 522 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 13 December 2000 (2000-12-13) cited in the application (S 3, Abs 0009); claims 1,2	1-15
X	----- WO 2006/040387 A1 (THERMO ELECTRON OY [FI]; JOHANSSON HENRIK [FI]) 20 April 2006 (2006-04-20) S 9, Z 25 ff; abstract	1-15
X	----- US 2010/174491 A1 (KIM HAN SANG [KR] ET AL) 8 July 2010 (2010-07-08) cited in the application abstract; figures 1-2 ----- -/--	1-15

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  27 November 2012	Date of mailing of the international search report  03/12/2012
---	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Bigot-Maucher, Cora
--	---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/063864

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/068060 A1 (DATEX OHMEDA INC [US]; HUIKU MATTI [FI]) 21 August 2003 (2003-08-21) claims 1,24 -----	1-15

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/EP2012/063864
---

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1059522	A1	13-12-2000	EP 1059522 A1 13-12-2000
			EP 1185852 A1 13-03-2002
			JP 2003502631 A 21-01-2003
			US 6882425 B1 19-04-2005
			WO 0077494 A1 21-12-2000
-----			
WO 2006040387	A1	20-04-2006	EP 1802959 A1 04-07-2007
			US 2009009750 A1 08-01-2009
			WO 2006040387 A1 20-04-2006
-----			
US 2010174491	A1	08-07-2010	KR 20100082212 A 16-07-2010
			US 2010174491 A1 08-07-2010
-----			
WO 03068060	A1	21-08-2003	AU 2003202603 A1 04-09-2003
			EP 1474036 A1 10-11-2004
			US 2003176776 A1 18-09-2003
			US 2005250998 A1 10-11-2005
			US 2009076354 A1 19-03-2009
			WO 03068060 A1 21-08-2003
-----			

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2012/063864

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
 INV. G01N21/27  
 ADD.

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole )  
 G01N

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 1 059 522 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 13. Dezember 2000 (2000-12-13) in der Anmeldung erwähnt (S 3, Abs 0009); Ansprüche 1,2	1-15
X	----- WO 2006/040387 A1 (THERMO ELECTRON OY [FI]; JOHANSSON HENRIK [FI]) 20. April 2006 (2006-04-20) S 9, Z 25 ff; Zusammenfassung	1-15
X	----- US 2010/174491 A1 (KIM HAN SANG [KR] ET AL) 8. Juli 2010 (2010-07-08) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung; Abbildungen 1-2 ----- -/--	1-15

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen  Siehe Anhang Patentfamilie

- |  |   |
|--|---|
| <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> | <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> |
|--|---|

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
27. November 2012	03/12/2012

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter  Bigot-Maucher, Cora
--	--

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 03/068060 A1 (DATEX OHMEDA INC [US]; HUIKU MATTI [FI]) 21. August 2003 (2003-08-21) Ansprüche 1,24 -----	1-15

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2012/063864

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung	
EP 1059522	A1	13-12-2000	EP 1059522 A1	13-12-2000
			EP 1185852 A1	13-03-2002
			JP 2003502631 A	21-01-2003
			US 6882425 B1	19-04-2005
			WO 0077494 A1	21-12-2000
-----				
WO 2006040387	A1	20-04-2006	EP 1802959 A1	04-07-2007
			US 2009009750 A1	08-01-2009
			WO 2006040387 A1	20-04-2006
-----				
US 2010174491	A1	08-07-2010	KR 20100082212 A	16-07-2010
			US 2010174491 A1	08-07-2010
-----				
WO 03068060	A1	21-08-2003	AU 2003202603 A1	04-09-2003
			EP 1474036 A1	10-11-2004
			US 2003176776 A1	18-09-2003
			US 2005250998 A1	10-11-2005
			US 2009076354 A1	19-03-2009
			WO 03068060 A1	21-08-2003
-----				