



F1000100436B



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 100436 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats 28.11.97

(51) Kv.lk.6 - Int.kl.6

G 01N 33/48, A 61B 5/14

(21) Patenttihakemus - Patentansökning 902200

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 02.05.90

(24) Alkupäivä - Löpdag 02.05.90

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 25.11.90

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

24.05.89 US 356077 P

(73) Haltija - Innehavare

1. Levine, Robert A., 47 Clapboard Hill Road, Guilford, CT 06437, USA, (US)
2. Wardlaw, Stephen C., 47 Clapboard Hill Road, Guilford, CT 06437, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Levine, Robert A., 47 Clapboard Hill Road, Guilford, CT 06437, USA, (US)
2. Wardlaw, Stephen C., 47 Clapboard Hill Road, Guilford, CT 06437, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab, Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Kokoonpano kokeiden tekemiseksi kokoonpanossa olevasta sentrifugoidusta verinäytteestä
Sammansättning för provtagningar i ett centrifugerat blodprov i sammansättningen

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

EP A 200303 (A 61B 5/14), US A 4315892 (G 01N 33/48), US A 4088582 (B 01D 21/26)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee mittausten tekemistä sentrifugoiduista materiaaali kerroksista tyhjäksi imetyssä lasista tai kirkkaasta muovista valmistetussa putkessa, joka sisältää kellukkeen. Kun tutkitaan mahdollisesti kontaminoituneita materiaaleja, kuten verta, tyhjäksi imetyn putken käyttö mahdollistaa mittausten teon tekijän joutumatta kosketukseen veren kanssa. Putkiin mahtuu noin 1 ml verta, ja ne on täytetty matalapaineiselle inerttikaasulla. Mitatoleranssit ovat väljemmät kuin kapillaariputken yhteydessä putken ja kellukkeen suhteen suuremman näytekapasiteetin ansiosta. Soluvyöhykkeet stabiloidaan kerroksella virtaavaa materiaalia, joka asetuu plasmakerrokselle sentrifugoinnin aikana ja muodostaa sille kalvon.

Uppfinningen avser mätningar av centrifugerade materialskikt i ett evakuerat glas eller klart plaströr, vilket innehåller en flottör. Vid testandet av eventuellt kontaminerat material, såsom blod, möjliggör användningen av det evakuerade röret att mätningarna kan utföras utan att teknikern utsätts för blodet. Rören är tillräckligt stora för att innehålla ungefär en ml blod, och de har fyllts med en inert gas vid lågt tryck. De dimensionella toleranserna i förhållande till toleranserna hos ett kapillärrör har lindrats för röret och flottören till följd av den större provkapaciteten. Cellbanden stabiliseras genom ett skikt av flytande material, vilket sätter sig på plasmaskiktet under centrifugeringen och bildar ett ytskikt på det samma.

Kokoonpano kokeiden tekemiseksi kokoonpanossa olevasta sentrifugoidusta verinäytteestä

Tämä keksintö koskee välineitä materiaalikerroksen
5 tilavuusarvojen määrittämiseksi sentrifugoidusta materiaa-
linäytteestä, kuten verestä. Testejä tehdään tyhjäksi ime-
tyssä putkessa, joka sisältää kellukkeen, joka laajentaa mi-
tattavia kerroksia.

Tarkemmin sanottuna on keksinnön kohteena patentti-
10 vaatimuksen 1 johdanto-osan mukainen kokoonpano kokeiden te-
kemiseksi kokoonpanossa olevasta sentrifugoidusta verinäyt-
teestä.

On kehitetty menetelmä monimutkaisen materiaali-
seoksen rakenneosina olevien kerrosten mittaamiseksi sent-
15 rifugoimalla materiaaliseosnäyte kapillaari- tai muussa put-
kessa, joka sisältää kellukkeen. Kelluke on edullisesti sy-
linterimäinen, ja sillä on ominaispaino, joka saa sen aset-
tumaan sentrifugoituun seokseen sillä tavalla, että putkeen
muodostuu vapaa rengasmainen tila, johon yksi tai useampi
20 mitattava kerros asettuvat. Siten mitattavat kerrokset pi-
dentyvät fysikaalisesti ja ovat helpommin ja tarkemmin mi-
tattavissa. Tätä menetelmää kuvataan mm. US-patentti-
julkaisuissa 4 027 660 (7. kesäkuuta 1988), 4 082 085 (4.
huhtikuuta 1978) ja 4 156 570 (20. toukokuuta 1979).

25 Kun tutkittava materiaali on mahdollisesti kontami-
noitunut materiaali, kuten veri, on toivottavaa suojata ko-
keiden tekijä joutumasta kosketukseen veren kanssa. Kun
edellä kuvatut tekniikan tasoa vastaavat menetelmät toteu-
tetaan käyttämällä kapillaariputkia, joutuu testin tekevä
30 henkilökunta alttiiksi verelle, sillä kapillaariputket ovat
päistään avoimia. Niinpä huolimatta normaaleista va-
rotoimista näytteiden käsittelyssä on olemassa mahdollisuus
joutua verinäytteen kontaminoimaksi.

Tämä keksintö koskee välineitä, jotka on tarkoitettu
35 käytettäväksi mahdollisesti kontaminoituneen materiaalin,

kuten veren, keräämiseen ja testaamiseen ja joita käytettäessä testin tekevä henkilö ei milloinkaan joudu kosketukseen veren kanssa. Veren siirtämistä keräysastiasta mitausputkeen ei tarvita. Niinpä eliminoidaan mahdollisuus
5 joutua kontaminoituneen verinäytteen infektoimaksi. Kun käytetään tämän keksinnön mukaista putkea ja kelluketta, verinäyte kerätään suljettuun putkeen ja tutkitaan siinä, eikä veri missään vaiheessa poistu putkesta keräämisen jälkeen. Keksinnön eräänä lisäetuna on se, että sen yhteydessä käytetään yhtä suljettua putkea, joka sisältää kaikki solulasken-
10 tojen toteuttamiseen tarvittavat komponentit, ja mainitut komponentit ovat stabiilissa, inertissä ympäristössä. Tämän keksinnön yhteydessä käytettävä putki on edullisesti kapillaariputki, mutta sen läpimitta on suurehko, niin että se
15 voi sisältää noin 0,9 ml verta. Putken sisälle sijoitetaan sylinterimäinen kelluke, jolla on tarkasti säädelty ulkoläpimitta, niin että se laajentaa fysikaalisesti valkosolu- ja verihiutalekerroksia verinäytteessä sentrifugoinnin jälkeen. Kelluke valmistetaan muovimateriaalista, jonka ominaispaine
20 on sellainen, että kelluke kelluu tiivistyneissä punasoluissa, kun putkessa oleva verinäyte on sentrifugoitu. Tarvittavat reagenssit, kuten väriaine ja punasoluja tiivistävä aine, edullisesti kaliumoksalatti, sijoitetaan putkeen, edullisesti nestemuodossa. Elastomeeritulppa sulkee putken avoi-
25 men pään, ja putken sisätila täytetään matalassa paineessa olevalla inerttikaasulla. Putkessa vallitsevaa alhaista painetta käytetään verinäytteen imemiseen putkeen, joko suoraan laskimosta tai suoraan kaksikärkisellä neulalla primaarise-
30 sta verenkeräysvälineestä, kuten välineestä, jota myy Becton Dickinson and Company kauppanimellä "Vacutainer".

Kun näyte otetaan potilaasta primaariseen keräysputkeen, tämä varustetaan neulalla, jota käytetään lävistämään tämän keksinnön mukaisen putken elastomeeritulppa, minkä jälkeen veri virtaa keräysputkesta neulan kautta tes-
35 tausputkeen. Jotta saadaan aikaan soluvyöhykkeiden muo-

dostuminen putkessa kun putki ja veri sentrifugoidaan, laitetaan putken yläosaan tiksotrooppista geeliä. Sentrifugoinnin aikana geeli virtaa putkessa ja asettuu plasmakerroksen pinnalle ja muodostaa jäykkäliikkeisen kalvon
5 plasman päälle. On ilmeistä, että geelin ominaispaine täytyy olla pienempi kuin plasman. Eräs esimerkki sopivasta geelistä on silikonigeeli.

Keksinnön mukaiselle kokoonpanolle on tunnusomaista se, mitä on sanottu itsenäisen patenttivaatimuksen 1 tunnusmerkkiosassa. Keksinnön mukaisen kokoonpanon edulliset suoritusmuodot ovat epäitsenäisten patenttivaatimusten 2 - 3 kohteena.

Kun tämän keksinnön mukaisella tavalla käytetään läpimitaltaan suurempia putkia ja kellukkeita, tapahtuu läpimitatoleranssin väljentyminen putken sisäläpimitan ja kellukkeen ulkoläpimitan välillä. On toivottavaa saada aikaan valkosolu- ja verihiutalekerrosten laajentuminen kymmenkertaiksi tehtäessä solulaskentamittaukset käyttämällä edellä kuvatun tekniikan tason mukaista putki-kellukeyhdistelmää.
15 Käytettäessä tämän keksinnön mukaisia suurennettuja putkia ja kellukkeita, on saatavissa aikaan laajeneminen kymmenkertaiseksi putken sisäpinnan ja kellukkeen välisen rengasmaisen vapaan tilan ollessa noin 125 mm. Tätä voidaan verrata tekniikan tasoa vastaavien kapillaariputkien ja kellukkeiden
20 vapaaseen tilaan, joka on noin 43 mm. Tuloksena oleva suurempi vapaa tilavuus suurentaa 5 %:n tarkkuuden vaatimat mitatoleranssit noin kolminkertaisiksi.

Eräs toinen etu, joka saadaan aikaan käyttämällä suurempaa putkea ja kelluketta, on solujen jakautumisen hydrodynamiikan parantuminen valkosolu- ja verihiutalealueella.
30 Suuremman rengasmaisen tilavuuden ja suuremman verinäytteen ansiosta on laajentuneissa kerroksissa läsnä enemmän soluja kuin tekniikan tasoa vastaavissa välineissä. Tämä johtaa plasman vapaaseen valumiseen valkosolu- ja verihiutalekerrosten läpi sentrifugoinnin aikana, jolloin tuloksena on
35

tarkkarajaisemman ja tiiviimmän soluvyöhykkeen muodostuminen.

Tämän keksinnön eräänä päämääränä on siten saada aikaan parannettu verikoeväline, joka mahdollistaa verisolulaskentojen tekemisen suorittajan joutumatta alttiiksi verinäytteen aiheuttamalle kontaminaatiolle.

Tämän keksinnön eräänä toisena tavoitteena on tarjota käyttöön luonteeltaan kuvatun kaltainen verikoeväline, jonka yhteydessä mittatoleranssit ovat väljemmät ja samalla saadaan aikaan tarvittava solukerroksen laajentuminen.

Tämän keksinnön eräänä lisätavoitteena on tarjota käyttöön luonteeltaan kuvatun kaltainen verikoeväline, jolla testataan suurempia verinäytteitä.

Tämän keksinnön eräänä lisätavoitteena on vielä tarjota käyttöön luonteeltaan kuvatun kaltainen verikoeväline, jossa soluvyöhykemuodostelma on sentrifugoinnin jälkeen stabiili ja säilyvä.

Tämän keksinnön eräänä lisätavoitteena on myös tarjota käyttöön luonteeltaan kuvatun kaltainen verikoeväline, jonka yhteydessä saadaan aikaan verisolujen parantunut perkolaatio sentrifugoinnin aikana.

Keksinnön nämä ja muut tavoitteet ja edut käyvät paremmin ilmi seuraavasta keksinnön edullisen suoritusmuodon kuvauksesta tarkasteltuna yhdessä liitteenä olevien piirustusten kanssa, joissa

kuvio 1 on pystyleikkauskuva tämän keksinnön mukaisesti muodostetun putki-kellukekokoonpanon eräästä edullisesta suoritusmuodosta, ja

kuvio 2 on samanlainen pystyleikkauskuva kuin kuvio 1, mutta siinä näkyy, miten kokoonpanoa voidaan käyttää verinäytteen imemiseen primaarisesta verenkeräysputkesta.

Kuvio on kuvioiden 1 ja 2 kaltainen kuvio, mutta se esittää kuvion 1 mukaista kokoonpanoa verinäytteen imemisen ja sentrifugoinnin jälkeen.

Viitataksemme nyt kuvioihin, kuvio 1 esittää tämän keksinnön mukaisesti muodostetun verikoevälineen erästä edullista suoritusmuotoa. Verikoeväline sisältää läpinäkyvän putken 2, joka on muodostettu edullisesti lasista ja jolla on yhtenäisesti suljettu pää 4. Putkeen 2 sijoitetaan muovinen kellukekappale 6 samoin kuin värjäävät ja punasoluja tiivistävät reagenssit 8. Elastomeeritulppa 10 sulkee putken 2 avoimen pään, ja tikсотrooppista geeliä 12 sijoitetaan putken 2 sisäpuolelle tulpan 10 ympärille. Geelin 12 sijasta voidaan käyttää muovikiekkoa 13 peittämään putkessa 2 oleva sentrifugoitu verinäyte. Kiekossa 13 on aukko 15, jonka läpimitta on suunnilleen sama kuin kapillaariputken sisäläpimitta. Putken pituus on edullisesti noin 75 mm, sama kuin kapillaariputken, ja se sisäläpimitta on noin 4,0 mm. Sen kapasiteetti veren suhteen on noin 0,9 ml. Kellukkeen pituus on noin 2 cm ja läpimitta noin 3,79 mm.

Kuvio 2 esittää, miten putki 2 voidaan täyttää verellä primaarisesta verenkeräysputkesta 14 siirtolaitteen 16 avulla, jossa on kaksikärkkinen neula tai kanyyli 18. Siirtoväline 16 sisältää ulomman kuoren 20, johon liittyy kiinteästi tulppa 22, jossa neula on kiinni. Neula 18 ulottuu tulpassa 22 olevaan ensimmäiseen syvennykseen 24, jonka koko on sellainen, että se pystyy ottamaan vastaan verikoeputken 2 tulpalla varustetun pään. Kuori 20 muodostaa toisen syvennyksen 26, jonka koko on sopiva primaarisen verenkeräysputken 14 tulpalla varustetun pään vastaanottamiseen. Siirto-neula 18 läpäisee putkessa 14 olevan tulpan 28 ja myös koeputkessa 2 olevan tulpan 10. Putkessa 2 vallitseva alhainen paine saa aikaan veren virtaamisen putkesta 14 neulan 18 kautta putkeen 2, kunnes putki 2 täyttyy suurin piirtein kokonaan. Kun putki 2 on täytetty, se vedetään pois syvennyksestä 24 ja sentrifugoidaan. Vaikka veren siirtäminen koeputkeen 2 keräysputkesta 14 on eräs tapa putken 2 täyttämiseksi, on aivan ilmeistä, että näyte voitaisiin ottaa suo-

raan potilaasta käyttämällä neulaa ja tyhjäksi imettyä putkea 2.

Kun veri tulee putkeen 2, reagenssit 8 sekoittuvat veren kanssa, ja putki 2 on valmis sentrifugoitavaksi. Putket 2 voidaan sijoittaa sentrifugiin suljettu pää 4 ulospäin, niin että punasolut laskeutuvat putken 2 suljettuun päähän ja plasma on putken tulpalla varustetussa päässä sentrifugoinnin jälkeen. Kuvio 3 esittää putken 2 ja veren tilaa sentrifugoinnin jälkeen. Punasolut 30 kerääntyvät putken 2 suljettuun päähän, ja kelluke 6 kelluu punasolukerrok-
10 sessa ja on osittain sen pinnan yläpuolella. Valkosolut ja verihiutaleet, jotka muodostavat ruskeankeltaisen pintakerroksen 32, asettuvat kellukkeen 10 ja putken sisäseinän väliselle alueelle, ja plasma 34 asettuu ruskeakertaisen pintakerroksen ja kellukkeen 10 yläpuolelle. Tiksotrooppinen geeli peittää plasmakerroksen 34 ja kelluu sen pinnalla pitäen siten sentrifugoidun veren rakenneosakerrokset paikallaan, kun putkea 2 käsitellään sentrifugointivaiheen jälkeen soluvyöhykkeiden paksuusmittauksien aikana. Putki 2 voidaan
20 siten sijoittaa tekniikan tasoa yleisesti vastaavaan lukulaitteeseen rikkomatta sentrifugoituja soluvyöhykkeitä, niin että valkosolu- ja verihiutalevyöhykkeiden akselin suuntaiset pituudet voidaan mitata ja muuttaa solulukumääräinformaatioksi lukulaitteen mikroprosessorilla.

Lienee helposti ymmärrettävissä, että tämän keksinnön mukaisia putkia voidaan käyttää verinäytteiden imemiseen potilaista tai verenkeräysputkista ja että verisolumittaukset voidaan sitten tehdä suoraan tulpalla varustetuissa suljetuissa putkissa, ilman että kenelläkään on mahdollisuutta joutua kosketukseen kontaminoituneen veren kanssa. Niinpä tätä verikoemenettelyä voidaan käyttää jopa potilaiden yhteydessä, joiden veren tiedetään olevan kontaminoitunut, mikä vähentää suuresti kokeen tekijään kohdistuvaa vaaraa. Putkien ja kellukkeiden valmistuksessa ovat
35 mittatoleranssit väljemmät, ja testauskokoonpanojen säily-

5 misaika on pitempi, sillä tyhjiksi imettyjen putkien sisätila täytetään inerttikaasulla. Solukerrosvyöhykemuodostelma säilyy käsiteltäessä putkea sentrifugoinnin jälkeen kalvon ansiosta, jonka tiksotrooppinen materiaali muodostaa plasman päälle sentrifugoinnin aikana.

10 Koska keksinnön esitettyyn suoritusmuotoon voidaan tehdä monia muutoksia ja variaatioita poikkeamatta keksinnön ajatuksesta, keksintöä ei ole tarkoitus rajoittaa muutoin kuin liitteenä olevien patenttivaatimusten edellyttämällä tavalla.

Patenttivaatimukset:

1. Kokoonpano kokeiden tekemiseksi kokoonpanossa olevasta sentrifugoidusta verinäytteestä, joka kokoonpano
5 käsittää läpinäkyvän putken (2), jossa vallitsee normaalia ilmanpainetta alhaisempi paine, jolloin putkessa on ensimmäinen suljettu pää (4) ja vastakkainen pää, joka on elastomeerisen tulpan (10) tiivistämä, t u n n e t t u siitä, että putkeen (2) on sovitettu kellukekappale (6), joka on so-
10 vitettu siten, että se asettuu kokoonpanossa olevan sentrifugoidun verinäytteen punasolukerrokseen (30), ja että putkeen (2) on sovitettu välineet (12,13) tulpan muodostamiseksi sentrifugoidun verinäytteen plasmakerroksen päälle, joka tulppa on sovitettu kokoonpanossa olevan sentrifugoidun
15 veren rakenneosakerrosten stabiloimiseksi paikalleen, kun kokoonpanossa olevaa sentrifugoitua verinäytettä käsitellään sentrifugoinnin jälkeen.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen kokoonpano, t u n n e t t u siitä, että väline tulpan muodostamiseksi
20 on putkeen (2) ennen sentrifugointia sovitettu tiksotrooppinen aine (12).

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen kokoonpano, t u n n e t t u siitä, että väline tulpan muodostamiseksi on sentrifugoidussa verinäytteessä plasmakerrokselle aset-
25 tuva kiekko (13).

Patentkrav

1. Sammansättning för provtagningar i ett centrifugerat blodprov i sammansättningen, vilken sammansättning
5 omfattar ett transparent rör (2), i vilken råder ett tryck som är lägre än det normala lufttrycket, varvid röret uppvisar en första förslutna ände (4) och en motstående ände, som är tätad medelst en elastomerisk propp (10),
k ä n n e t e c k n a d av att i röret (2) är anordnat
10 ett flottörelement (6), som är anordnat så att det lägger sig i det röda blodkroppsskiktet (30) hos det centrifugerade blodprovet inne i sammansättningen, och att till röret (2) har anordnats organ (12, 13) för att forma en propp ovanpå plasmaskiktet hos det centrifugerade
15 blodprovet inne i sammansättningen, vilken propp är anordnad att stabilisera på plats beståndsdelskikten hos det centrifugerade blodprovet beläget i sammansättningen, då blodprovet inne i sammansättningen behandlas efter centrifugeringen.

20 2. Sammansättning enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d av att organet för åstadkommandet av proppen är ett före centrifugeringen i röret (2) anordnat thiksotropiskt ämne (12).

25 3. Sammansättning enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d av att organet för åstadkommandet av proppen är en cirkelskiva (13) som lägger sig på plasmaskiktet.

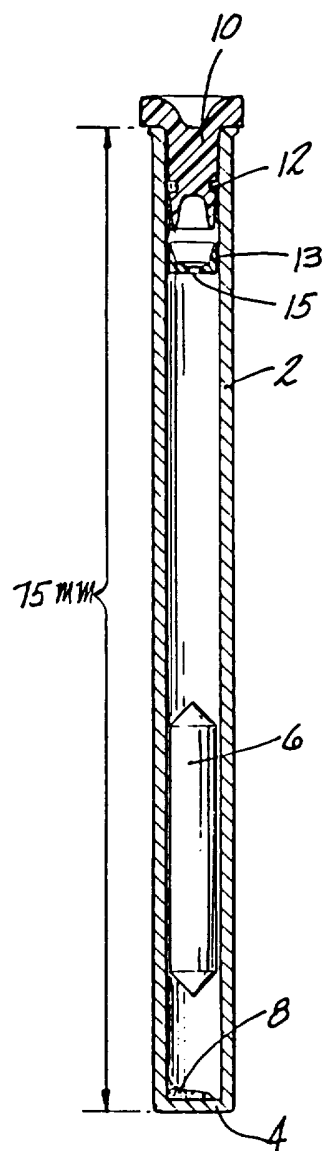


FIG-1

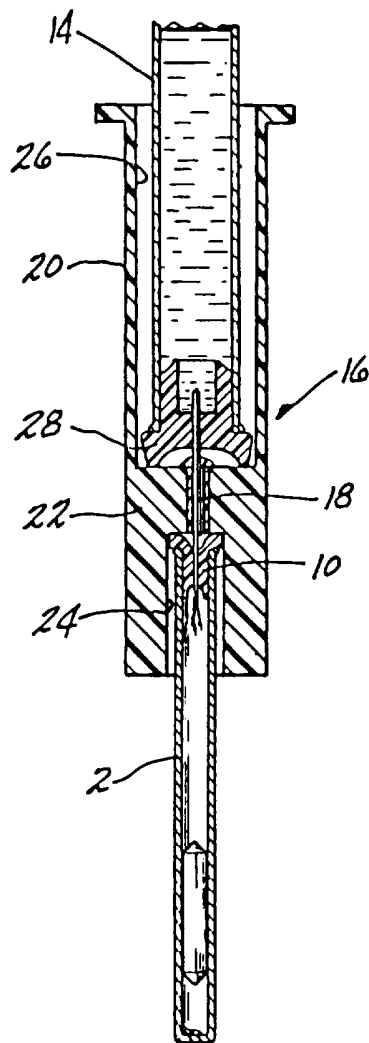


FIG-2

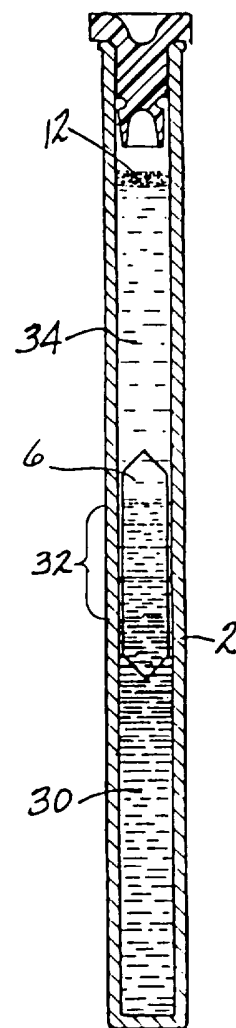


FIG-3