(11) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** 141079

DANMARK

(51) Int. Cl.³ G 01 N 15/00
G 01 N 21/27

(21) Ansøgning nr. 4570/71 (22) Indleveret den 17. sep. 1971

(23) Løbedag 17. apr. 1968

(44) Ansøgningen fremlagt og fremlæggelsesskriftet offentliggjort den 7. jan. 1980

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(30) Prioritet begæret fra den
17. apr. 1967, 631284, US

(71) COULTER ELECTRONICS LTD., High Street South, Dunstable, Beds, GB.

(72) Opfinder: William Fletcher Rothermel, 1255 West 49th Place, Hialeah, Florida, US: Robert Ivan Klein, 5595 West 15th Lane, Hialeah, Florida, US.

(74) Fuldmægtig under sagens behandling:
Ingeniørfirmaet Budde, Schou & Co.

(54) Apparat til samtidig udførelse af en kolorimetrisk måling og en partikelundersøgelse på en væskesuspension.

Den foreliggende opfindelse angår et apparat til udførelse af en kolorimetrisk måling og en partikelundersøgelse af den samme væskesuspension af partikler, omfattende et kar, der har gennemsigtige vægge, og som er indrettet til at indeholde en mængde af væskesuspensionen. Et sådant apparat anvendes inden for medicin og biologi. Apparatet er i første række velegnet for hæmatologer og diagnostikere. Foruden til undersøgelser af mistænkelige blodprøver er apparatet et værdifuldt hjælpemiddel til fortløbende udførte rutineundersøgelser af et stort antal prøver.

Som bekendt er blod sammensat af små mikroskopiske celler, nemlig af de dominerende røde blodlegemer og af de mindre dominerende hvide blodlegemer. Ved undersøgelser af egenskaberne må både selve cellerne og blodet som helhed undersøges. Man har erkendt,

at en gruppe målinger eller karakteristiske størrelser giver en information, der er karakteristisk for en given prøve eller i vid udstrækning kan anses for at beskrive denne.

Den ene af disse karakteristiske størrelser er hæmoglobintallet (HGB) og defineres inden for medicinen som antallet af gram hæmoglobin i 100 cm^3 af det samlede blod. Væsken i det indre af de røde blodlegemer består af et jernholdigt komplekst protein, der giver blodet den karakteristiske røde farve. I overensstemmelse med den i og for sig kendte fremgangsmåde til bestemmelse af hæmoglobintallet fremstilles der en suspension af blodet ved opløsning ved hjælp af et egnet kemisk stof, der nedbryder blodlegemernes vægge og frigør hæmoglobinet. Det frie hæmoglobin vil da reagere kemisk med et reaktionsmiddel, der er indeholdt i fortyndingsmidlet, hvorved den farvefrembringende forbindelse, der muliggør en bestemmelse, dannes. Farven af den resulterende opløsning bestemmes ved en kolorimetrisk fremgangsmåde, hvortil der anvendes forskellige kendte apparater, som f.eks. gennemstrømningskuvetter.

De kendte partikelanalyseapparater er kun egnede til tælling og til bestemmelse af størrelsen af partiklerne. Resultaterne afhænger i dette tilfælde af den relative bevægelse af partiklerne i suspensionen i forhold til en gennemgangsåbning med meget små dimensioner i et kar, idet der, hver gang der i gennemgangsåbningen optræder en partikel, sker en fortrængning af væske svarende til partiklens rumfang, så at den samlede elektriske impedans af gennemgangsåbningen udsættes for en ændring. Desuden forløber der i gennemgangsåbningen en kraftig elektrisk strøm, så at der ved en ændring af impedansen frembringes et kortvarigt elektrisk signal, når en partikel vandrer gennem gennemgangsåbningen. Amplituden af dette signal er desuden i det væsentlige proportional med størrelsen eller rumfanget af partiklen.

Formålet med opfindelsen er at tilvejebringe et principielt nyt apparat til samtidig måling og undersøgelse af de ovennævnte karakteristiske størrelser for en eller flere prøver i form af en suspension.

Ved opfindelsen løses derfor den opgave, der består i at tilvejebringe et apparat til udførelse af en fortløbende, automatisk, kolorimetrisk måling samt undersøgelse af partikler i en suspension. Dette apparat skal, hvad den kolorimetriske måling angår, virke uaf-

hængigt af den relative bevægelse af partiklerne i suspensionen i forhold til en gennemgangsåbning. Der skal kunne frembringes flere elektriske signaler svarende til sammensætningen af suspensionen, først og fremmest med henblik på bestemmelsen af antallet af hvide blodlegemer og ved en samtidig bestemmelse af et hæmoglobintal.

Ifølge opfindelsen løses denne opgave ved, at et eller flere aperturrør af den art, der kendes fra elektriske partikelanalysatorer, og er indrettet til partikelindikation på grundlag af den ændring i den elektriske impedans, der indtræder når partikler passerer gennem en åbning i rørets væg er anbragt i karret således, at rørets eller rørenes åbning eller åbninger er neddyppet i suspensionen, at en del af karret under det normale niveau for suspensionen har et par over for hinanden anbragte modstående parallelle vægge, der ligger i nogen afstand fra aperturrøret eller -rørene, og at der findes et organ til at rette en lysstråle gennem de parallelle vægge, men ikke gennem aperturrøret eller -rørene, til udførelse af den kolorimetriske måling samtidigt med partikelmålingen, idet aperturrøret eller -rørene og karret er forsynet med heri anbragte elektroder til elektrisk skandering af den suspension, der bringes til at passere gennem åbningen ind i røret, og elektroderne er indrettet til at forbindes i et detektorkredsløb.

I det følgende beskrives et foretrukket udførelseseksempel på et apparat ifølge opfindelsen nærmere under henvisning til tegningen, på hvilken

fig. 1 viser aperturrørene for prøver med hvide blodlegemer og en neddypningsbeholder med et skematisk vist hæmoglobinmåleapparatur, i perspektiv,

fig. 2 et snit i hovedsagen efter linien 2-2 i fig. 1 og set i den angivne retning, og

fig. 3 detaljeret viser en del af et vandret snit i hovedsagen efter linien 3-3 i fig. 1.

Først vil det være hensigtsmæssigt at forklare apparatet generelt ved beskrivelse af de funktioner, der udføres.

Blodprøven udtages på vilkårlig hensigtsmæssig måde og identificeres i hel form ved hjælp af en passende markering, sædvanligvis i form af et kort, der har felter, i hvilke den ønskede information trykkes af apparatets skriver. Apparatet har et rør eller en snorkel, der er neddyppet i prøven, og som indsuger en del af prøven i strømningskredsløbet. En lille afmålt del af dette blod over-

føres til et blandekammer sammen med en forud fastsat mængde fortyndingsmiddel, idet der i dette blandekammer sker en første fortynding. Fra dette kammer føres en del af den resulterende suspension til et andet blandekammer sammen med et indført cellenedbrydningsmiddel, idet suspensionen forbliver i dette andet blandekammer i et tidsrum, der er tilstrækkeligt til at muliggøre en nedbrydning af de røde blodlegemer til opløsning af deres hæmoglobin.

Blodprøven indeholdende hvide blodlegemer og hæmoglobinet føres ind i et bad, hvor der findes tre aperturrør, og suges ind i alle tre rør samtidig ved hjælp af et konstant fluidumtryk i et forud fastsat tidsrum. Aperturrørene er forsynet med tilhørende elektroder, og der findes en fælles elektrode i badet, så at der opnås tre sæt signaler ved passagen af de hvide blodlegemer ind i aperturrørene. Elektroniske kredsløb tilvejebringer et udgangssignal fra en detektor, hvilket signal direkte repræsenterer en tælling af hvide blodlegemer.

Til bestemmelse af HGB på grundlag af prøven i aperturrør--badet findes der en særlig udvidelse af badet til tilvejebringelse af parallelle iagttagelsesflader, gennem hvilke en stråle af passende lys bringes til at forløbe gennem suspensionen og ind i et lysfølsomt organ for at afgive information vedrørende hæmoglobinparameteren for den oprindelige prøve. Passende elektriske kredsløb er forbundet med udgangen fra det lysfølsomme organ for at afgive information vedrørende hæmoglobinparameteren for den oprindelige prøve. Passende elektriske kredsløb, der er forbundet med udgangen fra det lysfølsomme organ, afgiver en størrelse, som repræsenterer HGB.

Der henvises nu til tegningen, der viser aperturrørene for hvide blodlegemer og deres neddypningskar samt visse enkeltheder ved apparatet.

Da prøven med hvide blodlegemer har været udsat for en cellenedbrydning, findes der ingen røde blodlegemer heri. I øvrigt er hæmoglobinet fra de røde blodlegemer blevet frigjort, og den samme prøve er velegnet til en hæmoglobinbestemmelse. Denne udføres ved hjælp af den nye konstruktion, der er illustreret. Et kemisk stof i fortyndingsmidlet medfører en behandling af hæmoglobinet, så at det oxideres, idet den ønskede farve frembringes.

Karret 90 udgøres fortrinsvis af glaskar og har fortrinsvis form af en lomme, der er åben foroven, som det er vist ved 210, og

er indsnævret ved sin nederste ende, som det er vist ved 212. Kammeret 214, der dannes i det indre heraf, er forholdsvis snævert, og aperturrørene 144, der er anbragt i kammeret, er udfladet, så at et minimum af prøve vil stige forholdsvis højt op i kammeret 214. Eksempelvis er niveauet vist ved 216 i fig. 2 over åbningerne 146. Disse aperturrør er indsat i en plade 218, ved hjælp af hvilken alle tre aperturrør kan løftes eller sænkes samtidig. Denne plade samvirker med et stort, ikke vist bæreorgan, der ligger hen over den øverste ende af karret 90.

Ved sin nederste ende har karret et ud i ét hermed tildannet målekammer 200, som har en rektangulær, næsten kvadratisk tværsnitsform, og som udgør et hæmoglobinmålekammer. Fladerne 220 og 222 er fuldstændig parallelle og plane, og indersiderne på det sted, hvor lysstrålen 224 passerer gennem dem, er også parallelle og plane. En lyskilde, en projektor, et filter osv. 202, 204 med standardspecifikationer retter en stråle 224 gennem den samme suspension, som anvendes til bestemmelse af tællingen af hvide blodlegemer, og videre til et lysfølsomt organ 225 i et ikke vist hæmoglobinbestemmelsesapparat. Prøven indføres fra ledningen 120 i en tap eller nippel 226, hvis boring 228 ligger tangentialt i forhold til den indre væg i kammeret, så at væske, som kommer ind og følger pilene i fig. 3, vil strømme i en glidende bevægelse ind i kammeret uden turbulens eller bobledannelse.

Når den nye prøve befinder sig i kammeret 214, mens aperturrørene 144 er fulde af en foregående prøve, vil en tilførsel af vakuum over ledning 198 bevirke, at den nye prøve trækkes gennem åbningerne 146 ind i det indre af aperturrørene 144. Hver rør har sin egen indre elektrode 230 med en ledning 231, der fører til en detektor som er vist i fig. 2 og i hovedsagen er af den type, der er omtalt i beskrivelsen til britisk patent nr. 722.418. En fælles, jordforbundet elektrode 232, der er forsynet med en ledning 233, er anbragt i kammeret 214 således, at partiklerne, når de passerer gennem åbningerne, vil frembringe signaler over elektroderne og over de elektriske ledninger 231 og 233, der er forbundet med disse elektroder med henblik på tælling, størrelsesbestemmelse osv. Hver af de tre åbninger er belyst ved hjælp af en lyskilde 234, og en eller anden form for kollimator eller linse 236 anvendes til at samle strålen 238. Denne stråle passerer gennem åbningen, der sædvanligvis ligger ganske nær ved den ene af side-

væggene, og rettes dernæst mod et spejl 239, hvorfra åbningens udseeende kan projiceres på en slebet glasskærm. På denne måde kan alle tre åbninger iagttages optisk på samme tid med henblik på kontrol af tilstopning m.v.

Afløbet for badet 90 udgår fra en fitting 240, hvis boring udgør en skråstillet ledning 140.

P a t e n t k r a v .

1. Apparat til udførelse af en kolorimetrisk måling og en partikelundersøgelse af den samme væskesuspension af partikler, omfattende et kar (90), der har gennemsigtige vægge, og som er indrettet til at indeholde en mængde af væskesuspensionen, k e n d e t e g n e t ved, at et eller flere aperturrør af den art, der kendes fra elektriske partikelanalysatorer, og er indrettet til partikelindikation på grundlag af den ændring i den elektriske impedans, der indtræder når partikler passerer gennem en åbning (146) i rørets væg er anbragt i karret således, at rørets eller rørenes åbning eller åbninger (146) er neddyppet i suspensionen (216), at en del af karret under det normale niveau for suspensionen har et par over for hinanden anbragte modstående parallelle vægge (220 og 222), der ligger i nogen afstand fra aperturrøret eller -rørene, og at der findes et organ (202, 204) til at rette en lysstråle (224) gennem de parallelle vægge, men ikke gennem aperturrøret eller -rørene, til udførelse af den kolorimetriske måling samtidigt med partikelmålingen, idet aperturrøret eller -rørene og karret (90) er forsynet med heri anbragte elektroder (230, 232) til elektrisk skandering af den suspension, der bringes til at passere gennem åbningen ind i røret, og elektroderne er indrettet til at forbindes i et detektorkredsløb.

2. Apparat ifølge krav 1, ved hvilket karret (90) har et afløb (140) ved sin nederste ende og er indrettet til optagelse af flere aperturrør, k e n d e t e g n e t ved, at karret (90) i det væsentlige er rektangulært i vandret plan, og at karrets bund indsnævres nedad imod afløbet (140), mens der findes et målekammer (200) med i det væsentlige rektangulært tværsnit umiddelbart over drænet, idet de parallelle vægge udgør en del af dette målekammer, hvorhos karret (90) har form af en udfladet lomme, mens aperturrørene (144) er flade.

Fremdragne publikationer:

Dansk patentansøgning nr. 6132/66 (patent nr. 120922)
Franske patenter nr. 1372540, 1449409, 1450471
Svensk patent nr. 200514.

FIG. 1.

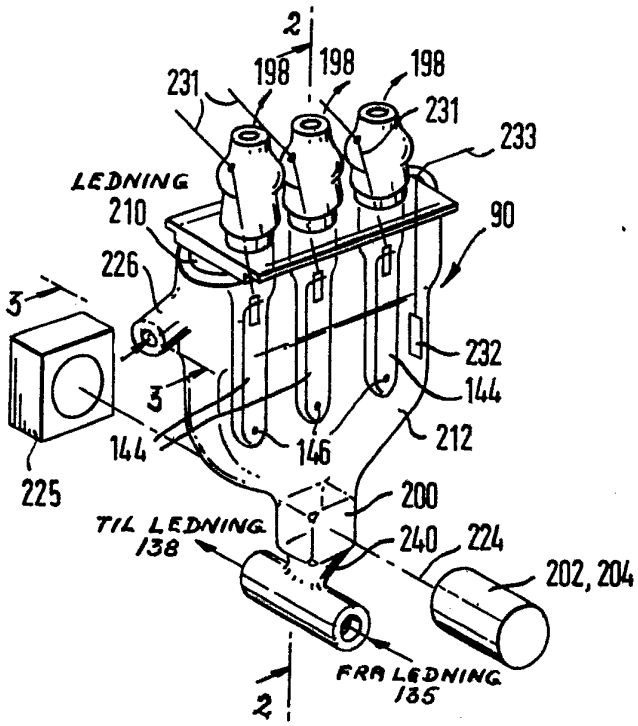

FIG. 2.

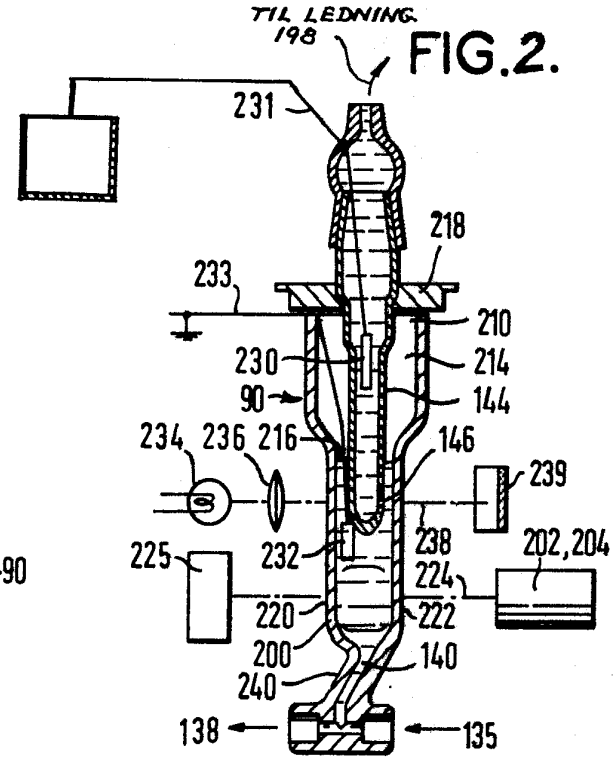

FIG. 3.

