

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 924029 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS  
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG  
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE  
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 924029

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -  
International patent classification  
**G01N 33/49**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 09.09.1992

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 09.09.1992

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 05.04.1993

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019

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

04.10.1991 US 770875

(71) Hakija - Sökande - Applicant

**1 •Levine, Robert A.,** 31 Pilgrim Lane, Guilford Conn. 06437, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

**2 •Wardlaw, Stephen C.,** 191 North Cove Road, Old Saybrook Conn. 06475, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1 •Levine, Robert A.,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

**2 •Wardlaw, Stephen C.,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

**Kolster Oy Ab,** Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**Erilaisten erytrosyyttien määrien mittaaminen**

**Bestämning av mängden olika erythrocyter**

## Erilaisten erytrosyyttien määrien mittaaminen

Tämä keksintö koskee erytrosyyttien eli punasolujen analysoimista verinäytteestä ja tarkemmin määriteltynä menettelyä ja välineistöä tiheydeltään erilaisten erytrosyyttialaryhmien populaatiotiheysjakautuman määrittämiseksi verinäytteestä, joka analyysi voi heijastaa potilaan veren punasolujen muodostumis- ja/tai häviämishistoriaa jopa niin pitkän ajan kuin viimeksi kuluneiden 120 päivän osalta.

Potilaan veren punasolupitoisuutta, joka on tuotannon ja häviämisen nettotulos, seurataan nykyisin mittaamalla hematokriittiarvo potilaan verestä. Hematokriitti on laskeutettujen punasolujen tilavuusprosenttinen osuus sentrifugoidusta kokoverinäytteestä. Hematokriittimäärityksiä voidaan nykyisin tehdä täyttämällä sisäläpimitaltaan pieni lasiputki antikoagulanttikäsitellyllä kokoverellä, sulkemalla putken toinen pää ja sentrifugoimalla putkea punasolujen laskeutumisen aikaansaamiseksi. Kun laskeutuminen on tapahtunut, mikä kestää noin 3 - 5 minuuttia pienessä sentrifugissa, mitataan laskeutuneiden punasolujen muodostaman pylvään pituus ja kokonaistäyttöpituus ja lasketaan hematokriitti, joka ilmoitetaan prosentteina. Hematokriittimääritys ei anna tietoja punasolujen tuotannosta ja/tai häviämisestä.

US-patenttijulkaisuissa 4 027 660, 4 181 609 ja 4 558 947 ja muissa julkaisuissa kuvataan menettelyä, jossa imetään antikoagulanttikäsitelty kokoverinäyte kapillaariputkeen, laitetaan verinäytteen sisältävään putkeen kelluke ja sentrifugoidaan verinäyte, jotta kelluke saadaan laskeutumaan punasolukerrokseen ja voidaan mitata vaalean pintakerroksen eri rakenneosien määrät. Tätä menetelmää käytetään myös hematokriitin mittaamiseen käyttämällä korjauskerrointa kellukkeen laskeutuneeseen punasolukerrokseen uppoamisen ottamiseksi huomioon ja sen yhtey-

5       dessä voidaan ottaa huomioon myös laskeutuneiden punasolu-  
       jen kutistuminen, jonka aiheuttavat verinäytteessä mahdol-  
       lisesti läsnä olevat lisäaineet, kuten kaliumoksidalaatti.  
 10       Hematokriittimääritys on luotettava menettely mittaushet-  
       kellä vallitsevan punasolupitoisuuden mittaamiseksi veres-  
       tä, mutta sillä ei ehkä havaita tiettyjä uusien punasolu-  
       jen tuotantoon tai punasolujen häviämiseen liittyviä tilo-  
       ja. Jos hematokriittiarvo on alhainen, lääkäri huomaa, et-  
       tä joko vallitsee tila, joka heikentää uusien punasolujen  
 15       muodostumista, tai että on tapahtunut tai tapahtumassa  
       epätyypillinen punasolujen häviäminen ja punasolujen tuo-  
       tanto on lisääntynyt riittämättömästi. Hematokriittimääri-  
       tyksillä ei kuitenkaan pystytä havaitsemaan tällaisia epä-  
       tyypillisiä tiloja, elleivät ne ole suhteellisen samanai-  
 20       kaisia hematokriittilukeman mittaamishetken kanssa. Jos  
       potilaalla on esimerkiksi ollut verenvuotoa kolme viikkoa  
       ennen hematokriittiarvon mittaamista, ei tämä verikoe si-  
       ten välttämättä osoita kyseistä tapahtumaa, sillä verihuk-  
       ka on saattanut aiheuttaa lisääntyneen punasolutuotannon  
 25       vuodon korvaamiseksi.  
       Vuorokauden ikäisissä punasoluissa on jäljellä nuk-  
       leiinihappofragmentteja, jotka tuoreella metyleenisinisel-  
       lä värjättyinä saavat solut näkymään retikulosyytteinä.  
       Värjäämällä punasolusivelynäyte ja laskemalla sitten ma-  
 30       nuaalisesti retikulosyyttipunasolujen prosentuaalinen  
       osuus voidaan arvioida vallitseva punasolujen tuotantono-  
       peus. Retikulosyytit voidaan vaihtoehtoisesti määrittää  
       verinäytteestä kaupallisesti saatavilla värjäysaineilla,  
       jolloin solut detektoidaan ja lasketaan fluoresenssiakti-  
 35       vaatioon perustuvilla solulajittelulaitteilla (FACS). Nor-  
       maali värjäys, sivelynäytemenettely ja FACS eivät pysty  
       detektoimaan esimerkiksi punasolujen tuotantonopeutta,  
       joka on viisinkertainen normaaliin nähden, joka on kestä-  
       nyt kolme vuorokautta ja joka on tapahtunut 10 vuorokautta  
       ennen verinäytteen ottoa. Tekniikan tasoa vastaavilla me-

nettelyillä pystytään havaitsemaan tuotannon lisääntymis- tai vähenemistapahtumia vain niiden aikana tai vuorokauden ajan niiden jälkeen.

5 L. M. Corash et al. (The Journal of Clinical Medi-  
cine, heinäkuu 1974) kuvaavat menettelyä erytrosyyttien  
erottamiseksi iän mukaan yksinkertaistetulla tiheysgra-  
dientilla. Tässä julkaisussa sanotaan, että erytrosyyttien  
erottaminen iän mukaan voidaan tehdä erilaisilla tekniikan  
tasoa vastaavilla soluja kannattavilla aineilla, kuten  
10 naudan seerumialbumiinilla, ftalaattiestereillä, dekstraa-  
nilla ja arabikumilla. Julkaisussa sanotaan, että nämä  
tekniikan tasoa vastaavat menettelyt ovat epätoivottavia,  
ja ehdotetaan käytettäväksi arabinogalaktaanipolysakkari-  
dia, jonka moolimassa on 30 000 daltonia, tekniikan tasoa  
15 vastaavien kannatusaineiden sijasta. Corashin et al. me-  
nettely vaatii kuitenkin defibrinoitujen, pestyjen ja las-  
keutettujen erytrosyyttien käyttöä, jotka sijoitetaan ker-  
rokseksi ennalta muodostetun väliainegradientin pinnalle.  
Laskeutettuja soluja ja väliainetta sisältävä putki täyte-  
20 tään mineraaliöljyllä ja sentrifugoidaan sitten solujen  
erottumisen aikaansaamiseksi. Siten Corashin et al. menet-  
tely on aikaavievä ja monimutkainen.

Tämä keksintö koskee menettelyä ja välineistöä pu-  
nasoluanalyysien tekemiseksi, joka menettely antaa tulok-  
25 seksi tiheydeltään erilaisten erytrosyyttialaryhmien popu-  
laatiotiheysjakautuman kokoverinäytteessä ja pystyy osoit-  
tamaan punasolujen tuotannon lisääntymis- ja/tai vähenty-  
mistapahtumat, joita on esiintynyt kahden vuorokauden ai-  
kana ennen näytteen analysointia tai sitä aiemmin ja aika-  
30 na, joka ulottuu jopa noin 120 vuorokautta taaksepäin ana-  
lyysin tekemisestä ja joita ei saataisi näkyviin tekniikan  
tasoa vastaavilla menetelmillä tehtävillä hematokriitti-  
ja retikulosyyttimäärityksillä.

Erytrosyytit esiintyvät *in vivo* jatkuvana tiheys-  
35 alaryhmägradienttina, jossa nuorimmat solut ovat kevyim-

piä. Tämä johtuu osittain solun kalium- ja vesisisällön hitaasta ja etenevästä menetyksestä erytrosyyttisolujen ikääntymisen myötä. Koko erytrosyyttipopulaation ominaispainoalue on noin 1,050 - 1,150 tai korkeintaan noin 10 % suurempi, jos näytteessä on läsnä punasolujen tiheyttä suurentavia aineita.

Tässä keksinnössä hyödynnetään erilaisia tiheysmarkkereita, joita lisätään sentrifugiputkeen erytrosyyttipopulaation alaryhmien erottamiseksi niiden ominaispainon tai tiheyden mukaan. Siten on mahdollista tehdä punasolujen menneisyyden analysointi, joka osoittaa sekä normaalin että epänormaalin erytrosyyttituotannon (tai -hukan) jopa niin pitkältä ajalta kuin 120 vuorokautta ennen testin tekopäivää.

Markkerit voivat olla muovihelmiä, lateksipalloja, liposomeja tms., jotka sisältävät "veljesryhmiä", jolloin kussakin ryhmässä olevilla helmi- tai pallomarkkerikomponenteilla on tarkasti rajattu ominaispaino, joka on edellä mainitulla erytrosyyttien ominaispainoalueella, ja kussakin ryhmässä olevien markkerien ominaispaino on eri kuin minkä tahansa muun ryhmän markkerien ominaispaino. Erilaisia markkeriryhmiä on edullisesti 5 - 20, ja ominaispainoero kahden peräkkäisen ryhmän välillä on aina sama. Niinpä suoritusmuodossa, jossa markkeriryhmiä on 20, markkereiden ominaispainoasteikko on 1,050, 1,055, 1,060 jne. 0,005 yksikön askelin arvoon 1,150 asti; alue on 10 % korkeampi, kun verinäytteessä on tiheyttä suurentavaa ainetta. Markkerit voidaan valmistaa muodostamalla tiheydeltään tai ominaispainoltaan erilaisten muovien tai muiden lähtöaineiden liuos. Markkereiden tiheyttä tai ominaispainoa ei muuta vuorovaikutus tutkittavassa näytteessä läsnä olevien verisolujen tai plasman kanssa.

Kun verinäytettä sentrifugoidaan putkessa, erilaiset markkeriryhmät laskeutuvat suunnilleen erytrosyyttipopulaation alaryhmien rajapinnoille, niin että kaikkien

solualaryhmien pituudet voidaan mitata ja muuttaa erytrosyyttien tiheysalaryhmien massoiksi. Kun mittaustulokset muutetaan histogrammiksi, saadaan indentifioiduksi mahdollinen epänormaali erytrosyyttituotanto ja -hukka, joka on tapahtunut ennen kokeen tekoa. Jos erytrosyyttien tuotanto- ja menetysaktiivisuus on ollut normaali koko tutkimuksen kohteena olevana koetta edeltävänä aikana, kutakin erytrosyyttialaryhmää vastaava kerros tai vyöhyke on suurin piirtein yhtä pitkä punasolukerroksen pinnasta sen pohjaan asti; vyöhykkeen pituus lyhenee hyvin hitaasti iän kasvaessa fysiologisen verimäärän pienenemisen vuoksi. Jos epänormaalia erytrosyyttituotantoa tai -hukkaa on tapahtunut tutkimuksen kohteena olevan jakson aikana, vyöhykkeet ovat pidempiä tai lyhyempiä tapauksen mukaan.

Jos punasolutuotannon voimistumisjakson aikana tuotantonopeus on noin kolminkertainen (tai mikä tahansa muu monikerta) normaaliin fysiologiseen nopeuteen nähden, kyseisen punasolualaryhmän koko kasvaa sentrifugoidussa verinäytteessä. Jos punasolualaryhmät ovat esimerkiksi 10 vuorokauden jaksoista peräisin olevia soluja ja lisääntynyttä tuotantoa on tapahtunut 5 vuorokauden ajan alaryhmää vastaavan 10 vuorokauden aikana kolminkertaisella nopeudella normaaliin tuotantonopeuteen nähden (ja näyte otetaan luonnollisesti aikana, jolloin kyseinen alaryhmä on vielä läsnä näytteessä), kyseisen alaryhmän pituus olisi kaksinkertainen normaaliin odotusarvoon nähden. Edellä mainittua valaisee seuraava hahmotelma 10 vuorokauden jaksosta, jonka aikana tapahtuu normaalia punasolutuotantoa viiden vuorokauden ajan ja esiintyy epänormaalin voimakasta, kolminkertaista punasolutuotantoa. Oletetaan, että 10 vuorokauden jaksossa mikä tahansa 5 vuorokauden ajan punasolutuotanto on kolminkertainen normaaliin "yksikkötuotantoon" nähden. Tämän jakson aikana syntyy 15 (3·5) "yksikköä" punasoluja. Muiden viiden vuorokauden aikana syntyy 5 "yksikköä" punasoluja (1 "yksikkö" kunakin viidestä

vuorokaudesta). Koko 10 vuorokauden jakson aikana havaitun tuotannon odotettaisiin olevan 10 "yksikköä", mutta edellä mainitun epänormaalin tuotantojakson aikana tuotanto on yhteensä 20 "yksikköä". Epänormaalin korkea punasolutuo-  
 5 tanto saa aikaan epänormaalin pitkän alaryhmän sentrifugoidussa punasolukerroksessa.

Vastaavasti on ilmeistä, että jos esiintyy jaksoja, joina punasolutuotanto on alentunutta, kyseistä alaryhmää vastaava punasolyvyöhyke on odotettua lyhyempi.

10 Sellaisten jaksojen aikana, jolloin esiintyy pitkittynyttä verihukkaa verenvuodon vuoksi, kaikki kyseisen vuototapahtuman aikana syntyneet punasolualaryhmät piene-  
 nisivät samassa suhteessa.

Tämän keksinnön yhtenä päämäärä on siksi tarjota  
 15 käyttöön parannettu menetelmä punasolualaryhmäpopulaation analysoimiseksi antikoagulanttikäsittelystä kokoverinäyt-  
 teestä tiheyden perusteella.

Tämän keksinnön yhtenä lisäpäämääränä on tarjota  
 20 käyttöön kuvatus luonteinen menetelmä, jossa punasolut sentrifugoidaan erilliseksi kerrokseksi läpinäkyvässä put-  
 kessa ja jaetaan punasolukerroksen sisäisiksi nähtävissä oleviksi alaryhmiksi.

Tämän keksinnön yhtenä päämäärä on vielä tarjota  
 25 käyttöön kuvatus luonteinen menetelmä, jossa punasolualaryhmät tehdään näkyviksi lisäämällä verinäytteesen markke-  
 reita, jotka markkerit käsittävät "veljesryhmiä", joista kullakin ryhmällä on tarkasti rajattu ja erilainen tiheys  
 tai ominaispaino.

Keksinnön yhtenä lisäpäämääränä on tarjota käyttöön  
 30 kuvatus luonteinen menetelmä, jossa markkerit ovat helmiä, jotka muodostavat punasolukerrokseen tarkkarajaisia lin-  
 joja, jotka erottavat punasolualaryhmät toisistaan omi-  
 naispainon mukaan.

Keksinnön nämä ja muut päämäärät käyvät paremmin  
 35 ilmi seuraavasta keksinnön yhden edullisen suoritusmuodon

yksityiskohtaisesta kuvauksesta tarkasteltaessa sitä yhdessä liitteenä olevien piirustusten kanssa, joissa

kuvio 1 on sivukuva tämän keksinnön mukaisen menet-  
telyn toteuttamiseen soveltuvasta sentrifugiputkesta,

5            kuvio 2 esittää kuvion 1 mukaista putkea, jossa on sentrifugoitu verinäyte; punasolukerros esitetään suurennettuna keksinnön luonteen korostamiseksi paremmin;

10           kuvio 3 on akselia pitkin piirretty poikkileikkauskuva toisesta keksinnön toteuttamiseen soveltuvasta sentrifugiputkisuoritusmuodosta;

kuvio 4 on kaaviomainen esitys tietokonetoimisella lukulaitteella sentrifugoidusta verinäytteestä tehdystä punasolukerrosmäärityksestä;

15           kuvio 5 on kaaviomainen yleisesitys kerrosmäärityksellä saaduista solualaryhmäkerrosten paksuuksia koskevista tiedoista piirretystä pylväsdiagrammista;

kuvot 6 ja 7 ovat punasolualaryhmien pituuksista piirrettyjä pylväsdiagrammeja, jotka osoittavat veren normaalin ja epänormaalin menneisyyden.

20           Kuvioissa 1 ja 2 kuvio 1 esittää putkea 2, joka voi olla lasikapillaariputki tai muu läpinäkyvä putki ja sisältää muovista valmistetun kellukkeen eli sisäkappaleen 4, jolla on sellainen ominaispaino, että kelluke 4 laskeutuu punasolujen läpi putken 2 pohjalle, kun verinäytteen sisältävää putkea sentrifugoidaan. Ominaispainoltaan  
25           erilaiset muovihelmi-ryhmät voidaan laittaa rykelmänä 5 putkeen 2. Muovitulppa 10 sulkee putken 2 pohjan 6.

Verinäyte imetään putkeen 2 ja sentrifugoidaan siinä yhdessä kellukkeen 4 ja helmien 5 kanssa. Helmirykelmä  
30           5 jakautuu verinäytteeseen ja asettuu toisistaan erottuviksi vyöhykkeiksi, jotka muodostavat linjoja punasolukerrokseen kuviossa 2 esitetyllä tavalla, kun taas kelluke 4 laskeutuu punasolujen R joukkoon ja niiden läpi.

35           Valkosolut W kerrostuvat vyöhykkeiksi punasolujen ja valkosolujen välisen rajapinnan I yläpuolelle. Helmi-



vyöhykkeet B jakavat punasolukerroksen punasolualaryhmiksi, jotka määräytyvät ominaispainon ja siten iän mukaan. Solutuotannon ja -hukan ollessa normaali punasolualaryhmien pituus laskee hyvin hitaasti punasolukerroksen pinnalta pohjalle mentäessä.

Kuvio 3 esittää vaihtoehtoista sentrifugiputkimuotoa, jota voidaan käyttää keksinnön toteuttamiseen. Putkessa 12 on suppilon muotoinen kanava, jossa on laajempi avoin pää 14 ja kapeampi suljettu pää 16. Kanava on mitoitettu siten, että sentrifugoidussa verinäytteessä olevat punasolut R laskeutuvat kanavan kavennettuun osaan 16 ja valkosolut ja plasma jäävät suurimmaksi osaksi kanavan laajennettuun osaan 14. Markkerivyöhykkeet B jakautuvat setrifugoituun punasolukerrokseen. Putki 12 muodostetaan läpinäkyvästä lasista tai muovimateriaalista. Havaittaneen, että kuvion 3 esittämä suoritusmuoto ei vaadi kellukekomponenttia.

Kun verinäyte on sentrifugoitu, näyte laitetaan laitteeseen, joka on US-patenttijulkaisussa 4 209 226 (S. C. Wardlaw, 24. kesäkuuta 1980) tai 4 558 947 (S. C. Wardlaw, 17. joulukuuta 1985) kuvattua tyyppiä. Laite mittaa kunkin punasolualaryhmävyöhykkeen ja antaa tulokseksi kuviossa 4 kaaviomaisesti esitettyä tyyppiä olevan käyrän, jossa alaspäin suuntautuvat "piikit" edustavat laitteen "näkemiä" markkerivyöhykkeitä eli -linjoja. Tämä käyrä muutetaan pylväshistogrammiksi, joka esitetään kaaviomaisesti kuviossa 5, jossa tiheyden (joka heijastaa solun ikää) mukaan jaetut punasolualaryhmät ovat x-akselilla ja y-akselilla on niiden punasolujen prosentuaalinen osuus, joiden tiheys on x-akselille merkittyä punasolupylväässä esiintyvää tiheyttä pienempi.

Kuviot 6 ja 7 ovat punasolualaryhmien pituuksista saatuja pylväsdiagrammeja, jotka esittävät normaaleja ja epänormaaleja tuloksia testissä, jossa markkerialaryhmiä oli yksi kutakin kulunutta vuorokautta kohden. Tila, jota

kukin pylväsdiagrammeista edustaa, on määritelty kyseisessä kuviossa. Nämä pylväsdiagrammit antavat tehokkaasti käyttöön päivittäisen punasolukerroshistogrammin, joka osoittaa aiemman punasolutuotanto- ja/tai -menetysaktiivisuuden päivää kohden.

5 Vaikka muovista sisäkappaletta voidaan kuvata "kellukkeeksi", lienee helposti ymmärrettävissä, ettei sen todellisuudessa tarvitse uida punasolujen joukossa. Muovisella sisäkappaleella tulisi olla sellainen tiheys tai ominaispaino, että se uppoaa ainakin merkittävään enemmistöön punasoluista, esimerkiksi syvyydelle, joka on vähintään noin 90 % laskeutettujen punasolujen muodostamasta pylväästä. Punasolualaryhmäkerrosten tulisi laajentua noin 10 1,5 - 3-kertaisiksi. Sisäkappaleen pituuden tulisi olla 15 riittävä takaamaan, että se ulottuu kokonaan laskeutetun punasolukerroksen läpi verinäytteessä, jonka hematokriitti on 40 tai pienempi. Ymmärrettäneen, että sisäkappaleesta voitaisiin tehdä piirustusten kuviossa 1 esitettyyn muoviseen pohjatulppaan yhtenäisesti kuuluva osa.

20 Markkerit voisivat koostua lukuisista kiekkoista, jotka on muodostettu tiheydeltään tai ominaispainoiltaan erilaisista muoveista; käytettäessä tällaisia kiekkoja ne täytyy kuitenkin pakata ennalta putkeen tiheyden tai ominaispainon mukaisesti, niin että raskaimmat kiekot sijoitetaan lähimmäksi putken pohjaa ja kevyimmät lähimmäksi yläpäätä.

Ymmärrettäneen myös, että tämän keksinnön mukaisen menettelyn aikaerotuskyky riippuu markkerialaryhmien lukumäärästä. Esimerkiksi 120 alaryhmämarkkeriryhmää, kuten 30 esitetään kuvioissa 6 ja 7, antaa aikaerotuskyvyksi 1 vuorokauden; 12 alaryhmämarkkeriryhmää antaisi puolestaan aikaerotuskyvyksi 10 vuorokautta useimmissa olosuhteissa. Sisäkappaleen uppoaminen kokonaan punasolukerroksen läpi ei häiritse kykyä määrittää verinäytteen hematokriittia 35 tekniikan tasoa vastaavalla asianmukaisella laitteella.

Laitteita, joita voidaan käyttää hematokriitin määrittämiseen verinäytteestä esitetään US-patenttijulkaisuissa 4 558 947 ja 4 683 579, jotka molemmat ovat S. C. Ward-lawin nimissä.

- 5            Koska keksintöön voidaan tehdä monia muutoksia ja variaatioita poikkeamatta keksinnön ajatuksesta, keksintöä ei ole tarkoitus rajoittaa muutoin kuin liitteenä olevien patenttivaatimusten edellyttämässä määrin.

**Patenttivaatimukset:**

1. Menetelmä populaatiotiheysjakautuma-analyysin tekemiseksi kokoverinäytteessä olevien erytrosyyttialaryhmien tiheydestä, t u n n e t t u siitä, että se käsittää seuraavat vaiheet:

a) otetaan läpinäkyvä putki, joka sisältää verinäytteen;

b) laitetaan mainittuun putkeen useita markkereita, jotka markkerit on jaettu erilaisten ominaispainojen mukaan rajattuihin ryhmiin, jotka ovat erytrosyyttien ominaispainoalueella, jolloin kunkin markkeriryhmän ominaispaino on selvästi erilainen kuin minkä tahansa muun markkeriryhmän ominaispaino; ja

c) sentrifugoidaan veri ja markkerit verinäytteen jakamiseksi rakenneosakerroksiinsa ominaispainon perusteella ja markkeriryhmien upottamiseksi erytrosyyttikerrokseen, niin että ne jakavat erytrosyyttikerroksen erillisiksi solualaryhmäkerroksiksi, jotka järjestyvät yleensä kyseisissä solualaryhmissä olevien yksittäisten solujen tiheyden mukaisesti.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että putkeen sisällytetään lisäksi yleisesti ottaen sylinterimäinen sisäkappale, jolla on sellainen ominaispaino, että se aiheuttaa mainitun sisäkappaleen uppoamisen erytrosyyttikerroksen läpi mainitun sentrifugointivaiheen aikana.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että lisäksi mitataan mainittujen solualaryhmäkerrosten pituudet kussakin solualaryhmäkerroksessa olevan solupopulaation määrittämiseksi kvantitatiivisesti.

4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että lisäksi piirretään histogrammi mainituista solualaryhmäkerrosten pituuksista.

5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että määritetään lisäksi mainitusta histogrammista menneisyydessä esiintyneet punasolunomaliat.

5           6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainitut markkerit ovat muovi-  
vihelmiä.

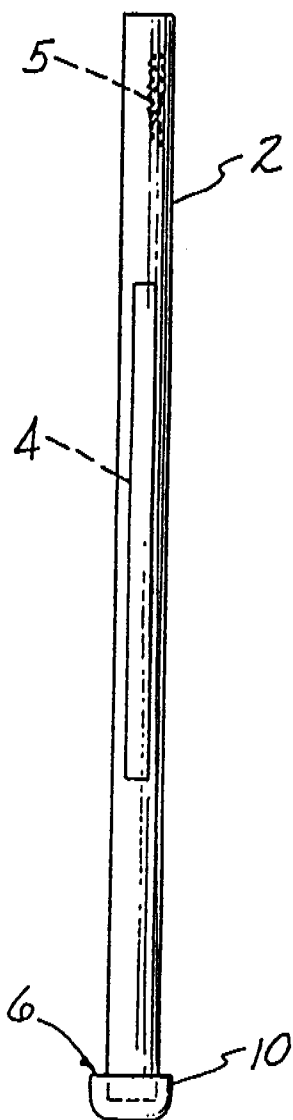
7. Välineistö populaatiotiheysjakautuma-analyysin tekemiseksi kokoverinäytteessä olevien erytrosyyttialaryhmien tiheydestä, t u n n e t t u siitä, että se käsittää seuraavat osat:

a) läpinäkyvä putki verinäytettä varten; ja  
b) lukuisia markkereita, jotka markkerit sisältävät useita markkeriryhmiä, jolloin kullakin ryhmällä on eryt-  
15       rosyyttien ominaispainealueella oleva ominaispaine ja kun-  
kin markkeriryhmän ominaispaine on selvästi erilainen kuin minkä tahansa muun ryhmän markkerien ominaispaine.

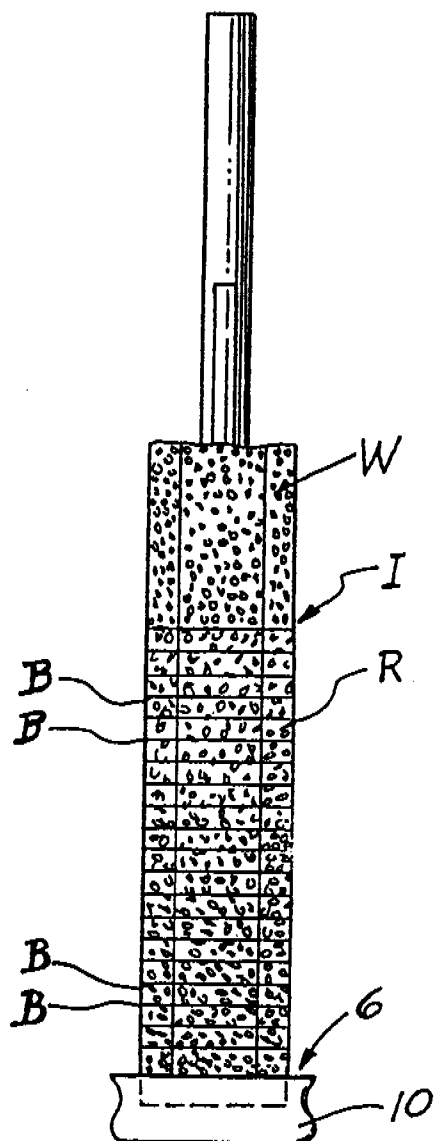
7. Patenttivaatimuksen 7 mukainen välineistö, t u n n e t t u siitä, että mainitut markkerit ovat muo-  
20       vihelmiä.

8. Patenttivaatimuksen 8 mukainen välineistö, t u n n e t t u siitä, että mainitut helmet jaetaan helmi-  
ryhmiin, niin että kunkin ryhmän ominaispaine eroaa 0,005 yksikön verran lähinnä seuraavan helmiryhmän omi-  
25       naispainosta.

10. Patenttivaatimuksen 7 mukainen välineistö, joka sisältää lisäksi yleisesti ottaen sylinterimäisen, mainit-  
tuun putkeen sijoitettavaksi tarkoitetun sisäkappaleen, jolla on sellainen ominaispaine, että se aiheuttaa maini-  
30       tun sisäkappaleen uppoamisen putkessa olevassa sentrifu-  
goidussa kokoverinäytteessä olevan erytrosyyttikerroksen läpi.

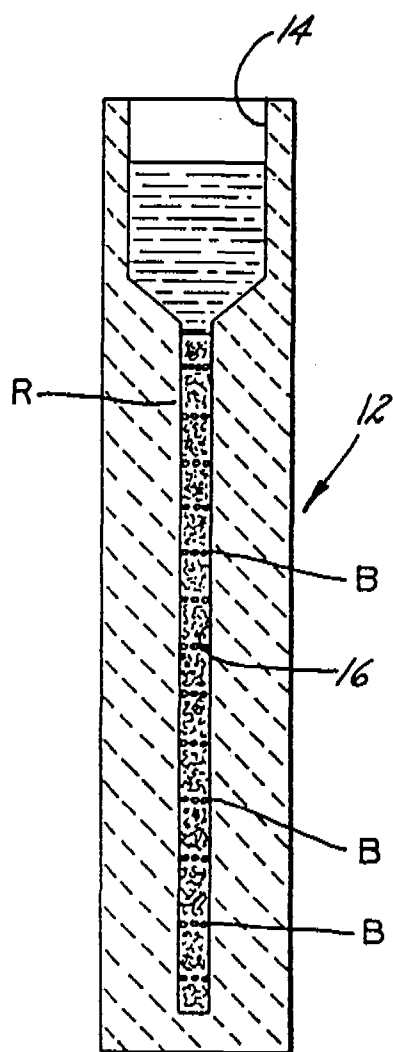


**FIG-1**



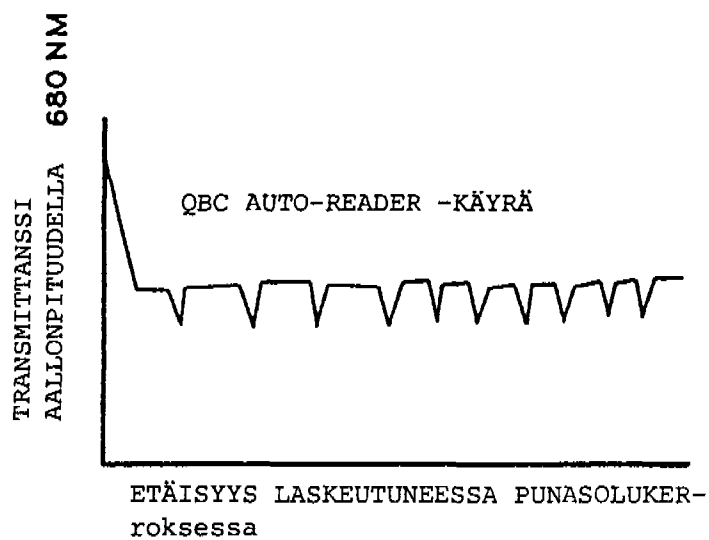
**FIG-2**

# PUNASOLUJEN TIHEYSJAKAUTUMAN MITTAUS

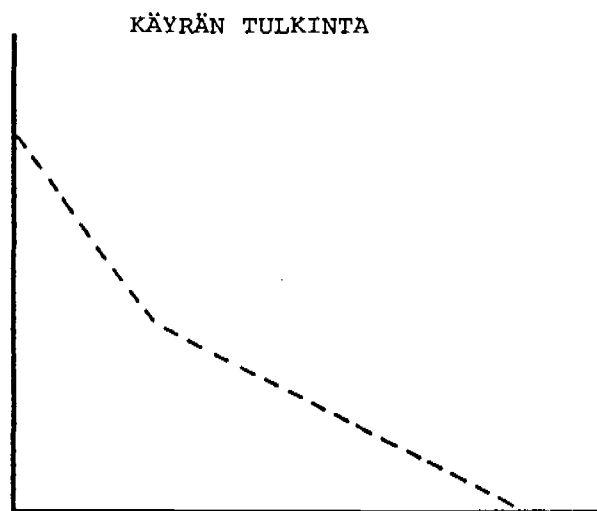


MUUNNETTU VACQ-PUTKI

**FIG-3**



**FIG-4**



**FIG-5**

PUNASOLUJEN TIHEYSJAKAUTUMA - NORMAALI

PYLVÄSDIAGRAMMI SARAKKEISTA  $X_1 Y_1$

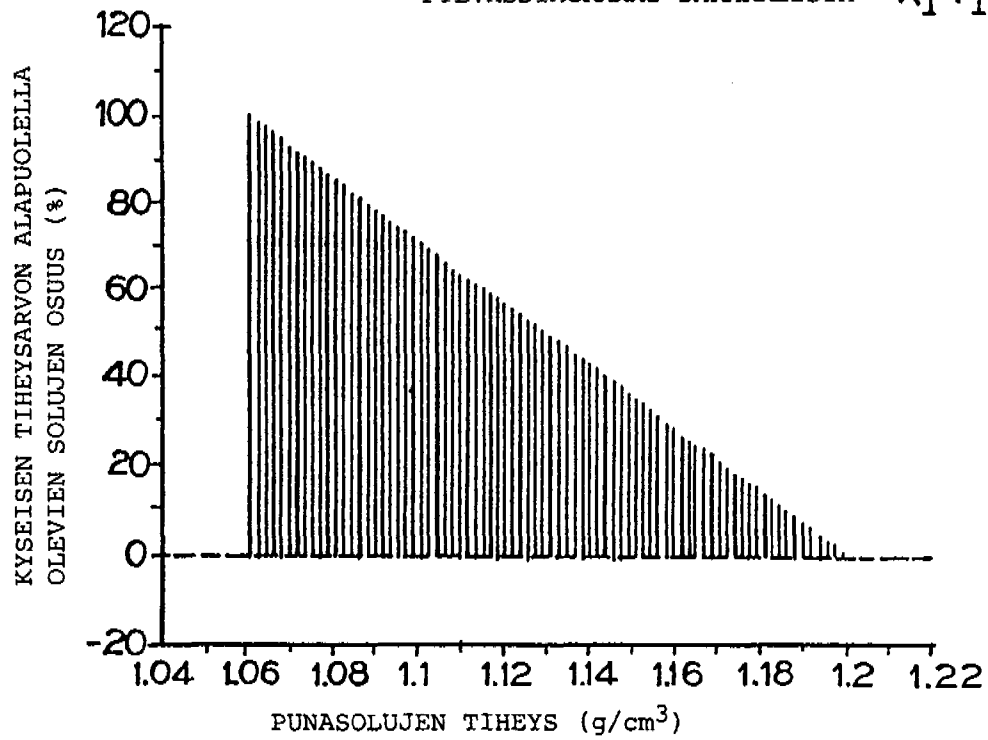


FIG-6

10 %:n VERENHUKKA PÄIVÄNÄ 10 - PÄIVÄ 16

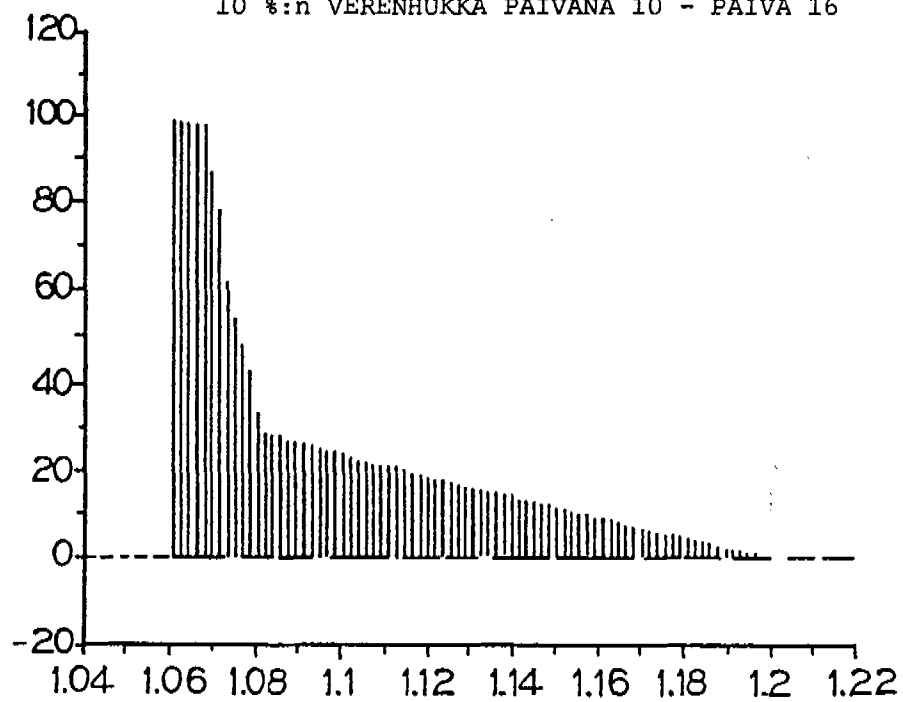


FIG-7



|                                |                 |
|--------------------------------|-----------------|
| <b>PATENTTIHAKEMUS<br/>NRO</b> | <b>LUOKITUS</b> |
| 924029                         | G01N 33/49      |

|                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TUTKITTU AINEISTO</b>                                                           |
| Patenttijulkaisukokoelma (FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US), tutkitut luokat |
| Tiedonhaut ja muu aineisto                                                         |

| VIITEJULKAISUT                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                            |                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------|
| Kategoria*)                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Julkaisun tunnistetiedot   | Koskee vaatimuksia |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | EP-A- 142 120 G01N 15/50   |                    |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | US-A-4 027 660 A61B 5/14   |                    |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | US-A- 3 920 557 B01D 21/26 |                    |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | US-A- 3 914 985 G01N 15/16 |                    |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | GB-A- 2 061 498 G01N 33/48 |                    |
| <p>*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna<br/>Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu<br/>A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este</p> |                            |                    |
| Päiväys                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Tutkija<br>Ritva Karonen   |                    |