



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 289 820 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1  
Patentgesetz der DDR  
vom 27. 10. 1983  
in Übereinstimmung mit den entsprechenden  
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) G 01 N 21/01

DEUTSCHES PATENTAMT

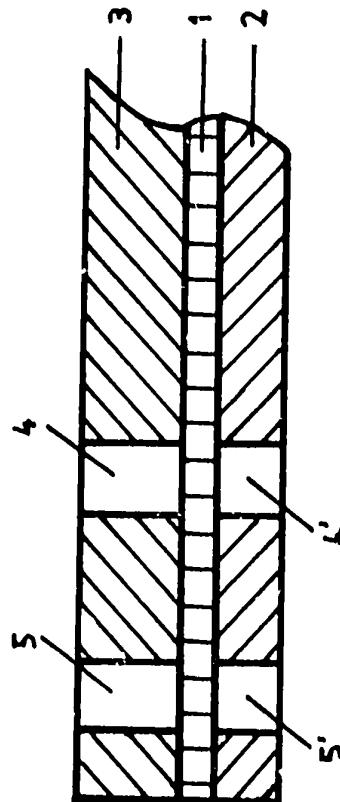
In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD G 01 N / 335 327 4 (22) 07. 12. 89 (44) 08. 05. 81

(71) Forschungsinstitut für Medizinische Diagnostik, Karl-Marx-Straße 3, O - 8080 Dresden, DE  
(72) Jänchen, Michael, Dr. sc. nat.; Hünninger, Henner, Dr. rer. nat.; Kiorok, Reinhard, Dipl.-Phys., DE  
(73) Forschungsinstitut für Medizinische Diagnostik, O - 8080 Dresden; Kombinat VEB Carl Zeiss JENA For-  
schungszentrum, O - 6900 Jena, DE

(54) Probenträger für die photometrische Bestimmung von Analyten

(55) Photometrie; Vielfachmessung; Trockentest; Mikroanalytik;  
Mikrotitrationsplatte; Klinische Chemie; Microplate Reader;  
Multiküvette; Biochemie; Mikrobiologie  
(57) Die Erfindung bezieht sich auf Probenträger zur rationeellen  
photometrischen Bestimmung von Analyten mit Testfolien, die  
sich damit für die serielle Abarbeitung vieler Proben eignen. Die in  
ein Vielfachphotometer einzulegenden Reagensfolien werden  
beispielsweise in Mikrotitrationsplatten-analoger Größe benutzt;  
auch kleinere Segmente sind möglich. Die aus Trägerschicht und  
Deckschicht bestehenden Probenträger im Meßgerät sind an den  
Meßstellen offene oder durchsichtige Träger- und Deckschicht,  
die die o. g. Abmessungen haben. Die Vorbehandlung der  
Reagensfolie entspricht der üblichen Verfahrensweise und kann  
entweder auf mehreren als Meßpositionen markierten Stellen bis  
maximal über die gesamte Fläche gleichzeitig oder nacheinander  
erfolgen, wozu Probeträger verwendet werden, die an den  
jeweiligen Meßstellen Deckschichtöffnungen und/oder  
Markierungen auf der Trägerschicht aufweisen. Die Erfindung ist  
besonders in klinisch-chemischen bzw. biochemischen  
Laboratorien zur Bestimmung von Analyten anwendbar, für die  
Trockentests existieren. Figur



### **Erfindungsanspruch:**

1. Probenträger zur seriellen photometrischen Bestimmung von Analyten in vorwiegend biologischen Flüssigkeiten, die matrixartig auf der Oberfläche des Probenträgers verteilt sind, **gekennzeichnet dadurch**, daß eine an sich bekannte Trockenreagensfolie (1) lösbar zwischen zwei starren Schichten (2, 3) angeordnet ist, die Deckschicht (3) entweder transparent ist oder der Matrix entsprechende Lichtöffnungen (4', 5') enthält und die Trägerschicht (2) zumindest unterhalb der Lichtöffnungen (4, 5) transparent ist oder ebenfalls der Matrix entsprechende Lichtöffnungen (4, 5) aufweist.
2. Probenträger nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Trägerschicht (2) und Deckschicht (3) der Matrix entsprechende Lichtöffnungen (4, 4', 5, 5') aufweist.
3. Probenträger nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Trägerschicht (2) und/oder Deckschicht (3) aus transparentem Material bestehen.
4. Probenträger nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß zur Behandlung der Trockenreagensfolie (1) vor der Messung eine flexible oder starre Deckschicht (3) verwendet wird, die gleich viele oder weniger Öffnungen aufweist, als der Matrix entspricht.
5. Probenträger nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß zur Behandlung der Trockenreagensfolie (1) vor der Messung eine Trägerschicht (2) verwendet wird, die an den Meßstellen der Matrix Markierungen aufweist.

### **Anwendungsgebiet der Erfindung**

Die Erfindung betrifft Probenträger zur photometrischen Bestimmung von Analyten in vorwiegend biologischen Flüssigkeiten, auf denen Serien von Meßpunkten erzeugt und anschließend photometrisch bewertet werden.

### **Charakteristik des bekannten Standes der Technik**

Für klinisch-chemische Bestimmungen sind eine Reihe von Trockentests bekannt. Sie sind entweder als Einzelteststreifen oder Einzeltestchip oder als Streifen mit mehreren Testfeldern für unterschiedliche Analyte verfügbar. Zur exakten Bestimmung der Analytkonzentration in den Probelösungen können sie photometrisch, z. B. reflektometrisch, im Durchlicht, fluorometrisch mit einem entsprechenden Meßgerät ausgewertet werden.

(„Reflotron zur quantitativen Bestimmung von Parametern der klinischen Chemie“, Firmenschrift Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim 1985; R. L. Sanderson, G. W. Scherer: „EKTACHEM Analyzer Instrumentation Functions“, Vortr. AACC Meeting, San Francisco, 23.-28. Juli 1978; „Glucosignal“, Handhabungsvorschr. VEB Pharmazeut. Kombinat GERMED Dresden, VEB Laborchemie Apolda, Dresden 1985)

Das erfolgt nach Auftragen der Probelösungen, wie Blut, Serum oder Urin, und ggf. Durchführung eines Nachbehandlungsregimes, wobei sich die optischen Kenngrößen der Reaktionszonen auf den Testfeldern verändern. Die Einzelteste sind relativ teuer, zumal eine chargenweise Kalibrierung, z. B. für je 50 Stück, erforderlich ist. Es ist auch eine serielle Bearbeitung in einem Automaten bekannt, jedoch ist auch hier ein Chip pro Bestimmung notwendig neben dem speziellen zugehörigen Analysator. Eine gleichfalls bekannte Küvettenlösung zur Messung von Einzelteststreifen gestattet hingegen wieder nur eine manuell vorzunehmende photometrische Messung als Einzeltest (DDR-Patent DD 254997). Bei der Anwendung optischer Meßverfahren z. B. für klinische Laboratorien hat sich in den letzten Jahren die Messung mit sogenannten Mikropplatten-Auswertegeräten (Micro Plate Reader) durchgesetzt. Solche photometrischen Auswertegeräte sind für die Durchführung quantitativer Bestimmungen weiterentwickelt worden. Damit dienen diese Photometer unter anderem auch zur seriellen Bestimmung von Analyten in der Klinischen Chemie.

Bei der Anwendung dieser Gerätesysteme sind bisher spezielle Qualitätsanforderungen besonders an die Kombination Photometereinheit/Mikrotitrationsplatte bzw. Photometereinheit/Multiküvette zu stellen. Das betrifft besonders die Qualität der Mikrotitrationsplatte oder der Multiküvette selbst, die dadurch kostspielig sind.

Außerdem sind wie bei üblichen naßchemischen Verfahren Probe- und Reagenslösungen in die entsprechenden Kavitäten der Mikrotitrationsplatte bzw. der Multiküvette einzupipettieren, dort ggf. zu mischen, zu inkubieren usw. Es ergeben sich dabei die bei der Naßchemie üblichen Verluste an Reagenzien, darunter z. T. sehr teurer Biochemikalien. Daher ist es erstrebenswert, anstelle von Mikrotitrationsplatten oder Multiküvetten Trockenteste, z. B. als Reagensfolien, zu benutzen.

Es gibt bisher noch keine Materialien zur Durchführung serieller photometrischer Messungen von Trockentesten, auf denen Serien von Meßpunkten erzeugt und photometrisch gemessen werden.

### **Ziel der Erfindung**

Das Ziel der Erfindung ist es, einen Probenträger vorzustellen, der unter Verwendung an sich bekannter Trockenreagensfolien die Einsparung von Arbeitszeit und von Reagenzien bei der photometrischen Bestimmung von Analyten in vorwiegend biologischen Flüssigkeiten ermöglicht.

## Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, einen Probenträger zu entwickeln, der unter Verwendung von Trockenreagensfolien die serielle photometrische Bestimmung von Analyten in vorwiegend biologischen Flüssigkeiten, die matrixartig auf der Oberfläche der Trockenreagensfolie verteilt sind, unter Einsatz bekannter Auswertephotometer, für die als Probenträger Mikrotitrationsplatten oder Multiküvetten oder Segmente von diesen vorgesehen sind, ermöglicht. Gleichzeitig sollen die Nachteile, die sich durch die speziellen Qualitätsanforderungen für die Kombination Photometer/Mikrotitrationsplatte bzw. Photometer/Multiküvette ergeben, überwunden werden.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß die an sich bekannte Trockenreagensfolie lösbar zwischen zwei starren Schichten angeordnet ist, die Deckschicht der Matrix des photometrischen Meßablaufs entsprechende Probeöffnungen enthält und die Trägerschicht zumindest unterhalb der Probeöffnung transparent ist oder dort Lichtaustrittsöffnungen erhält. Bei reflektometrischen Messungen mit reflektierenden Trockenreagensfolien können die Lichtaustrittsöffnungen in der Trägerschicht entfallen.

Erfindungsgemäß werden vor der photometrischen Messung dünne starre oder leicht flexible Deckschichten ohne besondere optische Eigenschaften verwendet, die Probeöffnungen an den mit Probelösung zu behandelnden Stellen der Trockenreagensfolie aufweisen und die bei gleichzeitiger oder aufeinanderfolgender Probeauftragung und ggf. Nachbehandlung der Auftragsstellen eine gegenseitige Kontamination dieser Stellen verhindern, was durch Aussparen von möglichen Meßstellen der eigentlichen Matrix des photometrischen Meßablaufs geschieht und/oder durch eine nur reihenweise Anordnung der Probeöffnungen, wozu eine besondere Trägerschicht mit Markierungen an den möglichen Meßstellen hilfreich ist oder eine bis auf die Meßstellen nicht transparente Trägerschicht.

## Ausführungsbeispiele

Die Erfindung soll nachfolgend an zwei Ausführungsbeispielen erläutert werden.  
Die beigefügte Figur 1 zeigt einen Längsschnitt durch den erfindungsgemäßen Probenträger.

### Beispiel 1

Verwendet wird ein Gerätesystem zur Bearbeitung und Auswertung von Mikrotitrationsplatten. Anstelle der üblichen Mikrotitrationsplatten oder Multiküvetten für 96fach Messungen kommen Reagensfolien 1 der Maße 127 mm x 85 mm zur Anwendung, die mit Reagenzien zur Glucosebestimmung für die medizinische Diagnostik beschichtet sind. Solche Reagensfolien noch größerer Abmessungen dienen, zu Einzelstreifen zerschnitten und mit reagensfreiem Griffstück versehen, ansonsten der Patientenselbstkontrolle oder Kontrolle in Diabetesambulanzen.

Dazu ist auf je einen Einzelstreifen ein Blutropfen aufzutragen, nach 1 min abzuwischen und visuell oder im Photometer nach dem Durchlichtverfahren einzeln auszuwerten. Dementsprechend wird die Reagensfolie der o. g. Masse nacheinander mit jeweils ca. 20 µl Blutprobe beschickt, jeweils abgewischt mit Abdecken umliegender Meßstellen durch eine als Lochmaske ausgebildete Deckschicht 3 mit Öffnungen 4, 5 und danach insgesamt mit dem Photometer quantitativ gemessen.

Eine oder mehrere Anfangsmeßstellen werden zur Korrektur als Leerwertstellen nicht beschickt. Die Meßstellen sind zur Probenauftragung entweder durch die auf die Reagensfolie aufgelegte Deckschicht 3 und deren Öffnungen 4, 5 (bis maximal 96) markiert oder werden durch eine untergelegte, markierte Trägerschicht 2 sichtbar. Zur Messung im Photometer wird die Reagensfolie zwischen zwei starre, durchsichtige Schichten 2, 3 gelegt, die die gleichen Abmessungen in Länge und Breite wie eine Mikrotitrationsplatte haben, also die Reagensplatte in der Plattenhalterung des Meßgerätes fixieren. Die Trägerschicht weist, wenn sie aus nichttransparentem Material besteht, Lichtöffnungen 4', 5' (bis maximal 96) auf.

Die Auftragung der Blutproben kann auch seriell mit mehreren Bluten unter Verwendung von Mehrfachpipetten erfolgen, wobei die verwendeten Lochmasken als Deckschicht 3 dahingehend dienen, daß sie eine Kontamination noch freier, aber zur späteren Messung verwendbarer Meßstellen auf der Reagensfolie beim Abwischen verhindern.

Neben Blutproben können auch andere Probenmaterialien, wie z. B. Serum oder Urin, verwendet werden. Bei genauer Dosierung ist ein Weglassen des Abwischschrittes möglich.

### Beispiel 2

Verwendet wird das Gerätesystem aus Beispiel 1 mit dem Unterschied, daß anstelle Reagensfolie in den Massen einer Mikrotitrationsplatte oder Multiküvette bei einer kleineren Anzahl vorliegender Proben Segmente dieser Folie zur Anwendung kommen, die beispielsweise längenmäßig die Hälfte oder ein Viertel der sonstigen Masse aufweisen, aber breitenmäßig unverändert in der Plattenhalterung des Meßgerätes innerhalb der Materialien nach Beispiel 1 angeordnet werden.

Die Probenauftragung kann wiederum einzeln oder seriell erfolgen.