

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) FI 964263 A7

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **964263**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
A61B 5/00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **26.04.1995**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **23.10.1996**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **23.10.1996**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - **26.04.1995 PCT/DE1995/000573**
Internationell ansökan - International
application

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

05.05.1994 DE 4415728 08.11.1994 DE 4439900

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Boehringer Mannheim GmbH, Sandhofer Strasse 112-132, 68305 Mannheim, SAKSA, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Essenpreis, Matthias, Germany, SAKSA, (DE)

2 •Knuettel, Alexander, Germany, SAKSA, (DE)

3 •Boecker, Dirk, Germany, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

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

Menetelmä ja laite glukosin analysoimiseksi biologisesta näytteestä

Ett förfarande och en apparat för att analysera glukos i ett biologisk t prov

Menetelmä ja laite glukoosin analysoimiseksi biologisesta näytteestä - Ett förfarande och en apparat för att analysera glukos i ett biologiskt prov

5

Keksintö koskee menetelmää glukoosin analysoimiseksi biologisesta näytteestä sekä vastaavaa glukoosin mittauslaitetta.

10

Käsite "biologinen näyte" kuvaa elävän organismin elimistön nestettä tai kudosta. Biologiset näytteet ovat useimmiten optisesti heterogeenisiä, toisin sanoen ne sisältävät useita sirontakeskuksia, joissa näytteeseen suunnattu valo siroaa. Kun kyseessä on biologinen kudos, erityisesti ihokudos, muodostuvat sirontakeskukset soluseinämistä ja muista kudoksen sisältämistä aineosista.

15

Elimistön nesteet, erityisesti veri, ovat samoin optisesti heterogeenisiä biologisia näytteitä, koska ne sisältävät partikkeleita, joissa näytteeseen suunnattu valo siroaa. Myös maito ja muut elintarvikekemiassa tutkittavat nesteet sisältävät usein suuren pitoisuuden sirontakeskuksia, esimerkiksi emulgoituneina rasvapisaroina.

20

Keksintö soveltuu suhteellisen voimakkaasti siroavien, toisin sanoen optisesti heterogeenisten biologisten näytteiden analysointiin. Tämä ei kuitenkaan sulje pois sitä mahdollisuutta, että keksinnön tarkoitukseen soveltuvilla suoritustavoilla voidaan myös analysoida optisesti homogeeniset (toisin sanoen vähän tai käytännössä ei ollenkaan siroavat) näytteet.

25

30

Tällaisten biologisten näytteiden komponenttien kvalitatiiviseen ja kvantitatiiviseen analyttiseen määrittelykseen käytetään yleensä reagensseja tai reagenssisysteemejä, jotka reagoivat kemiallisesti kunkin komponentin kanssa. Reaktio johtaa reaktioliuoksen fysikaalisesti osoitettavaan muutokseen, esimerkiksi sen värin muutokseen, joka voidaan mitata mittaussuureena. Kalibroimalla tunnetun konsentraation omaavilla standardinäytteillä määritetään mittaussuureen eri

35

5 konsentraatioilla mitattujen arvojen ja kunkin konsentraation välinen korrelaatio. Nämä menetelmät mahdollistavat äärimmäisen tarkat ja herkät analyysit, mutta tekevät kuitenkin nestemäisen näytteen, erityisesti verinäytteen ottamisen tarpeelliseksi ("invasiivinen analyysi"). Tämä näytteenotto on epämiellyttävä ja kivulias ja aiheuttaa tietyn infektiot-

10 Näin on ennen kaikkea silloin, kun sairaus vaatii useita analyysijä. Parhaana esimerkkinä tästä on diabetes. Vaikeiden jälkitautien ja kriittisten tilojen välttämiseksi potilaalla, on tässä sairaudessa tarpeellista määrittää veren glukoosipitoisuus hyvin usein ja jopa jatkuvasti.

15 Tämän vuoksi on jo ehdotettu useita menetelmiä ja laitteita glukoosin määrittämiseksi verestä, kudoksista tai muista biologisista näytteistä in vivo ja ei-invasiivisesti.

20 Yleiskatsaus fysikokemiallisista (reagenssivapaista) glukosinmäärittäyksistä in vivo on esitetty seuraavissa julkaisuissa:

J. D, Kruse-Jarres "Physicochemical Determinations of Glucose in vivo", J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 26 (1988), 201 - 208. Ei-invasiivisina menetelminä mainitaan tällöin muun
25 muassa ydinmagneettinen resonanssi (NMR, nuclear magnetic resonance), elektronispinresonanssi (ESR, electron spin resonance) sekä infrapunaspektroskopia. Mikään näistä menetelmistä ei ole kuitenkaan tähän mennessä saavuttanut käytännön merkitystä. Vaaditaan suuria ja kalliita laitteita,
30 jotka eivät ollenkaan sovellu rutiinimäärittäykseen eivätkä potilaan itsekontrolliin (home monitoring).

Keksintö koskee osaryhmää sellaisia menetelmiä, joissa mitausvalo suunnataan valolähteestä näytettä rajoittavan rajapinnan läpi primaarivalona siihen ja valodetektorin havaitsee biologisesta näytteestä tätä rajoittavan rajapinnan läpi
35 poistuvan valon, jotta voidaan määrittää biologisen näytteen (ilman reagenssien käyttöä) kanssa vuorovaikutuksessa oleva valon muuttuva fysikaalinen ominaisuus, joka korreloi biolo-

gisen näytteen glukoosikonsentraation kanssa. Tällaista menetelmävaihetta kuvataan seuraavassa "detektiovaiheeksi".

5 Detektiovaiheessa määritettyä (havaittua) glukoosikonsentraation kanssa korreloivaa valon fysikaalista ominaisuutta, jota voidaan kuvata myös "määrällisenä parametrina" (englanniksi: quantifiable parameter), nimitetään seuraavassa yksinkertaisuuden vuoksi "mittaussuureeksi". Tätä käsitettä ei kuitenkaan saa ymmärtää siten, että täytyy mitata mit-
10 taussuureen määrätty määrä vastaavana mittayksikkönä.

Koska tässä esitetyt menetelmät eivät yleensä ole mahdollistaneet glukoosikonsentraation absoluuttista mittausta, tarvitaan kalibrointia (samoin kuin tavanomaisissa, kemiallisiin reaktioihin perustuvissa analyysimenetelmissä). Tavallisesti vähintään yhdessä kalibrointivaiheessa, joka suoritetaan mittausteknisesti samalla tavalla kuin detektiovaihe, määritetään tunnetun glukoosikonsentraation omaavan biologisen näytteen pitoisuus. Tällöin voidaan saada näytteen kulloinenkin glukoosikonsentraatio millä tahansa edeltä käsin tunnetulla menetelmällä glukoosin absoluuttisen konsentraation määrittämiseksi.

25 Analyysimenetelmän tulkintavaiheessa määritetään glukoosikonsentraatio mittaussuureen muutoksesta vähintään yhdessä detektiovaiheessa verrattuna vähintään yhteen kalibrointivaiheeseen. Tulkintavaihe käsittää tulkinta-algoritmin, jossa glukoosikonsentraatio määritetään edellä kuvatulla tavalla vähintään yhden detektiovaiheen tuloksista.

30 Tällaisille menetelmille esitetyt valon aallonpituudet ovat yleensä noin 300 nm:n ja useiden tuhansien nm:ien välillä, siis spektrialueella, joka on lähi-UV- ja infrapuna-alueen välillä. Käsitettä "valo" ei saa ymmärtää rajoituksena valon
35 näkyvälle spektrialueelle.

Lähes kaikki tämänlaatuiset tunnetut menetelmät perustuvat spektroskopian periaatteisiin. Perustana on tällöin säteilynä käytetyn primarivalon vuorovaikutus analysoitavien mole-

kyyllien vibraatio- ja rotaatiotilojen kanssa. Mittaussuureena on tällöin valon intensiteetti I , jonka pieneneminen määritetään absorptiolla biologisessa näytteessä riippuen aallonpituudesta L . Tavallisesti valon heikkeneminen ilmaistaan absorptiona $E(L) = \lg [I(L)/I_0(L)]$, jolloin I kuvaa sekundaarivalon intensiteettiä ja I_0 kuvaa primaarivalon intensiteettiä.

Glukoosin vibraatio- ja rotaatio-perustilat ovat IR-alueella aallonpituudella > 2500 nm. Niitä ei voida käyttää biologisessa näytteessä aina suurena pitoisuutena olevan veden voimakkaan absorptioon vuoksi glukoosin ei-invasiiviseen analyysiin. Lähi-IR-alueella (NIR) veden absorptio on vähäisempää (niin sanottu "vesi-transmissioikkuna"). Glukoosin spektri-analyysi tällä alueella perustuu ylivärahdysten (overtones) absorptioon ja glukoosimolekyylin vibraatio- ja rotaatio-perustilojen kombinaatiovärahdyksiin (vertaa edellä siteerattu artikkeli: Kruse-Jarres sekä patenttijulkaisu EP-A-0 426 358).

Näihin periaatteisiin perustuvan, ei-invasiivisen glukoosisensorin käytännön toteutus aiheuttaa erittäin suuria vaikeuksia. Hyötysignaali (absorptiospektrin muutos riippuen glukoosikonsentraation muutoksesta) on hyvin vähäinen verrattuna häiriösignaaleihin, jotka ovat tuloksena erityisesti veden spektriabsorptiosta ja muista voimakkaasti absorboivista komponenteista. Tämän lisäksi voimakas sironta kudoksessa tai veressä on suuri häiriötekijä.

Tämän ongelman ratkaisemiseksi suoritettiin useita erilaisia kokeita. Tällöin häiriövaikutukset eliminoidaan usein valittamalla sopiva mittausaallonpituus yhdistettynä differenssimittaukseen. Laajalle on levinnyt ennen kaikkea "kaksiaallonpituusspektroskopia", jossa ensimmäinen mittausaallonpituus on valittu siten, että glukoosi absorboi mahdollisimman voimakkaasti, kun taas toinen aallonpituus on valittu referenssiaallonpituutena siten, että valon absorptio on mahdollisimman vähän riippuvainen glukoosikonsentraatiosta. Tällaiset tai vastaavat menetelmät ovat esimerkiksi julkaisu-

jen: EP-A-0 160 768, WO 93/00856 ja US-patentti 5 028 787 kohteena.

5 Eurooppalaisessa patenttijulkaisussa 0 074 428 on kuvattu menetelmää ja laitetta glukoosin kvantitatiiviseksi määrittämiseksi lasersironnalla. Tällöin lähdetään siitä, että glukoosimolekyylit sirottavat liuoksen läpi kulkeneen valonsäteen ja että siitä voidaan johtaa glukoosikonsentraatio. Tämän teorian mukaisesti käytetään tutkimuskyvetistä tai
10 tutkitusta kehon osasta poistuvan transmittoidun valon intensiteetin avaruuskulmajakautumista glukoosikonsentraation kanssa korreloivana mittaussuureena. Erityisesti mitataan transmittoidun valon intensiteetti kulma-alueella, jossa muutos on glukoosikonsentraatiosta riippuen mahdollisimman
15 suuri ja se suhteutetaan suoralinjaisesti näytteen läpäis- seessä keskisäteessä mitattuun intensiteettiin.

Tästä vaivannäöstä huolimatta ei tähän mennessä ole onnistuttu kehittämään käytännössä toimintakykyistä, ei-invasiivista glukoosisensoria.
20

Keksinnön tehtävänä oli kehittää menetelmä glukoosin määrittämiseksi analyttisesti biologisesta näytteestä, ja menetelmän tulee olla reagensseista vapaa ja ei-invasiivinen ja
25 sen tulee mahdollistaa hyvin tarkka analyysi, esimerkiksi analyytin pitoisuuden muutoksen havaitsemiseksi (kontrolli) riittävän ajanjakson aikana.

Tämä tehtävä ratkaistaan menetelmällä, joka käsittää vähintään yhden detektiovaiheen ja yhden tulkintavaiheen edellä olevien selvitysten merkityksessä siten, että osa valolähteen suuntaamasta valosta johdetaan referenssivalotietä pitkin, jolla on määritelty optinen matkanpituus, valodetektoriin, primaarimittausvalotiestä, näytevalotiestä ja sekundaarimittausvalotiestä koostuvalla kokonaismittausvalotiel-
30 lä on määritelty optinen matkanpituus, sekundaarinäytevalotie ja referenssivalotie yhdistetään ennen valodetektoria siten, että sekundaarivalo ja referenssivalo interferoivat keskenään, jolloin valodetektori mittaa interferenssisigna-
35

lin ja interferenssisignaalia käytetään tulkintavaiheessa glukoosikonsentraation määrittämiseen.

5 Keksinnön kohteena on tämän lisäksi glukoosinmittauslaite
glukoosikonsentraation määrittämiseksi analyyttisesti biolo-
gisesta näytteestä, käsittäen valolähteen mittausvalon tuot-
tamiseksi, valoa kohdistavan laitteen, jossa on valoaukko,
jonka läpi mittausvalo suunnataan näytteen rajapinnan läpi
biologiseen näytteeseen, primaarimittausvalotien, joka yh-
10 distää valolähteen ja rajapinnan, valoa vastaanottavan lait-
teen näytteen rajapinnalta emittoituvalle mittausvalolle
mainitun näytteen kanssa tapahtuvan vuorovaikutuksen jälkeen
ja sekundaarinäytevalotien, joka yhdistää rajapinnan, jossa
mittausvalo poistuu näytteestä, valodetektoriin, ja joka on
15 tunnettu siitä, että valolähde ja valodetektori ovat liittyy-
neet toisiinsa referenssivalotien kautta, jolla on määritel-
ty optinen matkanpituus ja jossa optinen kytkin on sijoitet-
tu sekundaarinäytevalotiehen, joka yhdistää sekundaarimit-
tausvalotien ja referenssivalotien siten, että ne kohtaavat
20 samalla paikalla valodetektorin ja synnyttävät interferens-
sisignaalin.

Keksinnön oleellinen osa on se havainto, että glukoosin ana-
lyysiä varten voidaan saada tärkeää informaatiota interfe-
25 renssistä, joka syntyy, kun mittausvalo, joka on kulkenut
osan kokonaismittausvalotiestä näytteessä ja määrättyä valo-
tietä pitkin näytteen ulkopuolella kulkenut referenssivalon-
säde yhtyvät. Interferenssisignaalin tuottamiseksi keksin-
nön merkityksessä on huomioitava seuraavat perustavat mit-
30 taustekniset edellytykset.

Interferenssi edellyttää, että interferoivat osasäteet ovat
koherentteja. Keksinnön erityisen tärkeissä suoritusmuodois-
sa pidetään edullisena valoa, jolla on lyhyt koherenssipi-
35 tuus, jolloin valolähteenä käytetään erityisesti valodiodia
(LED) tai superluminesenssidiodia.

Mittausvalo ja referenssivalo suunnataan samasta valoläh-
teestä ja sama valodetektori havaitsee ne. Tavallisesti

käytetään interferenssijärjestelmissä optisia kytkijöitä, jotta valolähteen suuntaama valo jakautuisi referenssivalonsäteeksi ja mittausvalonsäteeksi ja jotta ne voitaisiin jälleen yhdistää ennen valodetektoria.

5

Kokonaismittausvalotiellä (joka koostuu primaarimittausvalotiestä valolähteestä näyterajapintaan, mittausvalon näytteessä kulkemasta näytevalotiestä ja sekundaarimittausvalotiestä näytteen rajapinnasta, jossa mittausvalo poistuu
10 näytteestä, aina valodetektoriin saakka) ja referenssivalotiellä täytyy kulloinkin olla määritelty optinen matkanpituus. "Määritelty optinen matkanpituus" tässä merkityksessä on edellytys sille, että interferenssi-ilmiöiden mittaustekninen havaitseminen ja tulkinta ovat mahdollisia. Interferenssisignaalin havaitseminen edellyttää, että molemmat keskenään interferoivat osasäteet ovat koherentteja detektio-
15 paikalla (valodetektorin valonherkällä pinnalla). Tämän vuoksi molempien valoteiden täytyy olla sellaiset, että koherenssi säilyy matkalla valodetektoriin. Tämä edellyttää, että fotonien valolähteen ja detektorin välillä kulkemat
20 matkat ovat tarkalleen samanlaisia, joten koherenssi ei häviä valotiellä mittausteknisesti häiritsevässä taustassa. Tässä mielessä on ymmärrettävä käsite "(interferometrisesti) määritelty optinen matkanpituus".

25

Optinen matkanpituus on fotonien matka ottaen huomioon ryhmänopeus väliaineessa. Homogeenisessa väliaineessa optinen matkanpituus l_0 vastaa taitekertoimen n ja geometrisen valomatkan pituuden l_g tuloa ($l_0 = n \cdot l_g$).

30

Interferenssisignaalin keksinnön merkityksessä on valodetektorin tuottama sähköinen signaali tai signaalin osa, joka on riippuvainen siitä, että mittausvalo ja referenssivalo interferoivat optisesti. Interferenssisignaali mitataan siis
35 ainoastaan, jos mittauspaikalla (valodetektorin valonherkällä pinnalla) esiintyy molempien valo-osuuksien interferenssiä.

Jotta interferometrisissä mittausmenetelmissä voidaan mitata

interferenssiin johtavan detektorisignaalin osuus mahdollisimman eristetyesti, työskennellään tavallisesti käyttäen modulaatiota, jonka avulla optista matkanpituutta moduloidaan vähintään yhdessä valotiessä (referenssivalotiessä tai mitta-

5 tausvalotiessä). Yleistä on esimerkiksi modulointi piezoelektrisen siirtäjän avulla (piezoelectric transducer, PZT). Modulointi johtaa valotiepituuden oskilloivaan vähäiseen muutokseen (pituuden muutoksella, joka on yleensä pienempi kuin valon aallonpituus ja taajuudella, joka on tavallisesti

10 joitakin kilohertsejä). Tämä valotiepituuksien modulointi johtaa yhdessä interferenssin kanssa AC-komponenttiin, jolla on modulaatiotaajuus valodetektorin signaalissa ja joka voimistuu selektiivisesti tavanomaisilla taajuusselektiivisillä mitta-

15 menetelmillä (esimerkiksi Lock-In-periaate) ja joka voidaan mitata. "Mittaus" tarkoittaa tässä yhteydessä interferenssisignaalia vastaavan sähköisen suureen uusittavaa mittausteknistä määrittystä. Absoluuttinen mittaus, jossa tulos voidaan ilmoittaa mittayksikköinä, ei yleensä ole välttämätön.

20 Interferometriset mittaussuomenetelmät ovat tunnettuja toisissa käyttötarkoituksissa, joissa niitä on käytetty usein. Tämä koskee erityisesti myös interferometriä käyttäen valolähteitä, joiden koherenssipituus on lyhyt, ja jota kuvataan

25 myös pienikoherenssi-interferometriaksi (Low Coherence Interferometry, LCI). Tällöin viitattakoon esimerkiksi seuraaviin julkaisuihin:

30 Danielson et al: "Guided-wave reflectometry with micrometer resolution", Applied Optics, 26, (1987), 2836 - 2842,

35 Takada et al: "New measurement system for fault location in optical waveguide devices based on an interferometric technique", Applied Optics, 26, (1987),

35 Schnitt et al: "Measurement of Optical Properties of Biological Tissues by Low-Coherence Reflectometry", Applied Optics, 32, (1993), 6032 - 6042,

WO 92/19930.

Näissä julkaisuissa tutkitaan tai viimeisessä tapauksessa kuvataan kolmiulotteisena kuvantamismenetelmänä sekä tekni-
5 siä objekteja (valonjohtokuituja informaationsiirtosysteeme-
jä varten) että myös biologisia kudoksia niiden optisten
ominaisuuksien suhteen. Julkaisut (ennen kaikkea WO 92/199-
30) sisältävät suuren määrän mittausteknisiä yksityiskohtia,
joita voidaan myös käyttää edullisesti esillä olevassa kek-
10 sinnössä ja joihin viitataan tässä sisällöllisessä mielessä.
Näistä julkaisuista ei kuitenkaan voida saada viittausta
mahdollisuuteen analysoida biologisten näytteiden komponent-
tien konsentraatiota, erityisesti glukoosikonsentraatiota.

15 Interferenssisignaalia voidaan käyttää tulkintavaiheessa eri
tavoin glukoosikonsentraation määrittämiseksi. Edullisia
ovat erityisesti seuraavassa selvennetyt kolme menetelmäta-
paa, jolloin lähempiä selvityksiä annetaan edullisena pidet-
tyjen suoritustapojen avulla kuvioiden kuvauksen yhteydes-
20 sä.

Ensimmäinen ja keksijöiden tämänhetkisen tietämyksen mukaan
näistä menetelmistä toiveikkain lähtee siitä havainnosta,
että fotonien optinen matka biologisen näytteen sisällä
25 (jota voidaan myös kutsua matriisiksi) on analyttisesti
hyödynnettävissä määrin riippuvainen glukoosikonsentraatios-
ta. Interferometrisen menetelmän avulla voidaan määrittää
hyvin tarkasti mittaussuure, joka vastaa valon ryhmänopeutta
näytteessä tai toisin sanoen näytteen taitekerrointa. Sitä,
30 miten tämä voi tapahtua, selvitetään myöhemmin kuvioiden
avulla.

Toisessa menetelmätavassa saadaan mittaussuure, joka vastaa
siroavien osasten sirontapoikkileikkauksen muutosta biolo-
35 gisessa näytteessä. Tähän tarkoitukseen käytetään heijastus-
systeemiä, jossa näytteestä heijastunut valo tulee sekundaarimittausvalotielle. Geometrisesti ilmaistuna primaarimittausvalotie ja sekundaarimittausvalotie ovat samassa, näytteen rajapinnan määrittelemässä puolitilassa, jolloin hei-

jastusinterferometriassa tavallisesti samat optiset elementit muodostavat primaarimittausvalotien ja sekundaarimittausvalotien, toisin sanoen määritetään näytteestä samalle mittausvalotielle takaisin heijastunut valo. Tämän lisäksi
 5 tässä menetelmässä on tarpeellista käyttää valolähdettä, jolla on lyhyt koherenssipituus. Jotta voidaan määrittää sirontapoikkileikkausta vastaava, glukoosikonsentraatiolle luonteenomainen mittaussuure, näytevalotien matkanpituuden suhteelle asetetaan suhteessa referenssivalotien matkanpituuteen eri arvot. Tämä voi tapahtua muuttamalla näytevalotien ja/tai referenssivalotien pituutta, jolloin referenssivalotien muutos on rakenteellisesti yksinkertaisempi ja sen vuoksi edullinen. Optisten matkanpituuksien suhde asetetaan
 10 tällöin sellaiseksi, että interferenssisignaali vastaa heijastuksia näytteen eri syvyyksissä, jolloin glukoosikonsentraatio määritetään interferenssisignaalin riippuvuudesta optisten matkanpituuksien suhteeseen (toisin sanoen näytteen, josta mittausvalo heijastuu, syvyydestä).

20 Kolmannessa menetelmätavassa määritetään vastaavasti, kuten edellä selvitetyissä spektroskooppisissa menetelmissä optisen absorption aallonpituusriippuvuus mittaussuureena. Keksinnön merkityksessä interferenssisignaalin informaatioisältöä hyödynnetään, jotta voidaan määrittää valon optinen
 25 matkanpituus näytteessä. Siten vältetään mittausvirheet, jotka tähänastisissa menetelmissä johtuivat ennen kaikkea epätarkkuuksista mitä tulee valotien pituuteen näytteessä.

Keksintöä selvennetään lähemmin seuraavassa kuvioissa esitettyjen suoritusesimerkkien avulla:
 30

Kuvio 1 Keksintöön käytettävän heijastus-interferometrin kaavakuva

35 Kuvio 2 Graafinen esitys kokeellisista tuloksista, joissa on käytetty sirontapoikkileikkausta mittaussuureena,

Kuvio 3 Keksintöön käytettävän transmissio-interferometrin kaavakuva

Kuvio 4 Voimakkaasti kaavioimainen poikkileikkaus silmästä keksinnön suoritusmuodon selventämiseksi

5 Kuvio 5 Kuvion 4 kanssa analoginen esitys kokeellisena mallina silmän etukammio

10 Kuviot 6a ja 6b Kaksi interferogrammia suoritetusta kokeesta, jossa on käytetty kuvion 5 mukaista kokeellista mallia,

Kuviot 7a ja 7b Fourier-muunnoksella tuotetut faasi-taajuus-diagrammit kuvioiden 6a ja 6b mittaustuloksiin,

15 Kuvio 8 Graafinen esitys kokeellisesti määritetyn mittaus-suureen (Faasi-Slope-ero) korrelaatiosta glukosikonsentraation kanssa,

20 Kuvio 9 Graafinen esitys kuvaa glukosiliuoksen kasvavaa taitekerrointa puhtaaseen veteen nähden valon aallonpituuden funktiona,

25 Kuvio 10 Graafinen esitys kuvaa keksinnön mukaisesti mitattua taitekerrointa glukosikonsentraation funktiona kahdelle eri valon aallonpituudelle,

Kuvio 11 Graafinen esitys kuvaa molempien kuvion 10 aallonpituuksien eri taitekertoimia glukosikonsentraation funktiona.

30 Kuvio 1 osoittaa keksinnönmukaisen lyhytkoherenssi-heijastus-interferometrin 1 periaatteellisen rakenteen (short coherence reflection interferometer, seuraavassa nimitetty SCRI:ksi). Siinä on valolähdehaara 3, näytehaara 4, referenssihaara 5 ja detektorihaara 6, jotka on liitetty toisiinsa valonkytkimellä 7.

35

Kuvatussa edullisena pidetyssä suoritusmuodossa interferometri 1 on rakennettu kuituoptisesti, toisin sanoen interferometrin valotiet muodostuvat monomode-valonjohtokuiduista

(single mode optical fibers) ja valonkytkin on kuituoptinen kytkin.

5 Puolijohdevalolähteestä 10, edullisesti superluminesenssi-
diodista peräisin oleva mittausvalo, jolla on lyhyt kohe-
renssipituus (ja samalla vastaavan suuri spektrijuovanleve-
ys), kytketään optisen kytkimen 7 sisään tuloon. Näytehaaran
4 kautta mittausvalo johdetaan yhteensä 11:llä merkittyihin
10 valoa kohdistaviin laitteisiin. Laitteet 11 käsittävät mit-
tauspään 13 ja valoaukon 12, jonka läpi mittausvalo suunna-
taan näytteeseen 14. Rajapintaa, jonka läpi valo menee näyt-
teeseen, kuvataan 15:llä.

15 Erityisen merkittävässä käytössä näyte on ihmisen ihoku-
dosta, erityisesti sormenpäistä, ylävatsanpeitteestä, huu-
lista, kielestä, olkavarren sisäosasta tai se on silmän ko-
vakalvon kudosta, jolloin kudospinta muodostaa rajapinnan
15. Mikäli biologinen näyte on nestettä (erityisesti verta),
joka sijaitsee optisesti läpinäkyvässä astiassa (kyvetissä),
20 on biologisen näytteen rajapintana pidettävä nesteen ja nes-
teen kostuttaman kyvetin sisäseinän välistä rajapintaa. Seu-
raavassa viitataan ilman yleisrajoituksia ihokudoksiin näyt-
teenä.

25 Näytteeseen näytevalotietä 16 tuleva mittausvalo heijastuu
symbolisesti kuvatusta sirontakeskuksesta 17 mittauslaitteen
pään 13 suuntaisesti. Tällöin mittauspään 13 valoaukkoon 12
kohdistuva valo palaa näytehaaran 4 kautta takaisin valon-
kytkimeen 7.

30 Valonkytkimen 7 ulosmenopuoleen on myös liitetty referenssi-
haara 5, jonka läpi osa valolähteen 10 valonkytkimeen 7
suuntaamasta valoenergiasta johdetaan yhteensä 19:llä kuvat-
tuun heijastussysteemiin. Se sisältää yhden optisella akse-
35 lilla liikkuvan heijastimen 20 (peili), joka heijastaa koh-
taavan valon takaisin tulosuuntaan. Heijastin 20 liikkuu op-
tisen akselin suunnassa, jolloin kuvatussa esimerkkitapauk-
sessa etenemissuunta 21 on lineaarinen.

Näytteestä 14 ja heijastimesta 20 heijastunut valo yhdistetään valonkytkimessä 6 ja se joutuu detektorihaaran 6 kautta valodetektoriin 23. Mittausvalon ja referenssivalon ollessa samanaikaisesti läsnä samassa tilaelementissä (esim. detektorin pinnalla) on täytetty avaruudellinen kohorenssiehto. Interferenssi syntyy, jos molemmat detektorihaaraan 7 kuljetetut valonosaset ovat myös ajallisesti koherentteja.

Primaarimittausvalotie 22, jota pitkin mittausvalo suunnataan näytteeseen 14, koostuu kuvion 1 mukaisesta suoritusmuodosta siis valolähdehaarasta 3 ja näytehaarasta 4, kun taas sekundaarimittausvalotie koostuu näytehaarasta 4 ja detektorihaarasta 6. Yhteensä 26:lla kuvattu referenssivalotie muodostuu valolähdehaarasta 3, referenssihaarasta 5 ja detektorihaarasta 6. Kuvatussa suoritusmuodossa primaarimittausvalotie 22 ja sekundaarimittausvalotie 24 ovat siis osittain yhtäläisiä (nimittäin optisen kytkimen 7 ja rajapinnan 15 välillä), joten molemmat valotiet kulkevat samojen optisten rakenne-elementtien läpi.

Edellytyksenä interferenssin mittaustekniselle hyödyntämiselle esillä olevan keksinnön merkityksessä on, että primaarimittausvalotien 22, näytevalotien 16 ja sekundaarimittausvalotien 24 muodostamalla kokonaismittausvalotiellä ja referenssivalotiellä 26 on kulloinkin (interferometrisesti) määriteltä pituus. Edullisena pidetyssä tapauksessa, jolloin valolähteellä 10 on lyhyt koherenssipituus (edullisesti alle $50\text{ }\mu\text{m}$, erityisen edullisesti alle $10\text{ }\mu\text{m}$), on tämän lisäksi interferenssin edellytyksenä, että kokonaismittausvalotien ja referenssivalotien optiset matkanpituudet ovat yhtä suuret. Muussa tapauksessa valonosasten vaadittavaa ajallista koherenssia ei ole. Kuvatussa suoritusmuodossa tämä merkitsee, että optisen valotien optisesta kytkimestä 7 näytehaaran 4 läpi aina heijastavaan sirontakeskukseen 17 saakka toisaalta ja optisesta kytkimestä 7 referenssihaaran 5 läpi aina heijastimeen 20 saakka toisaalta täytyy olla yhtä pitkä. Ainoastaan, jos tämä ehto on täyttynyt valolähteen 10 koherenssipituuden määrittelemien rajojen sisällä, voi valolähde 23 mitata interferenssisignaalin.

Interferenssisignaalin selektiiviseksi mittaamiseksi edellytetään kuvatussa esimerkissä PZT 27:ää, jonka avulla yhtä ainoastaan mittaussuvalon tai ainoastaan referenssuvalon läpässeistä osa-valoteistä, kuvatussa tapauksessa näytehaaraa 4, moduloidaan sen optisen matkan pituuden suhteen. PZT 27:tä, valolähdettä 10 ja heijastimen 20 liikkeen ohjausta 21 säätelee ohjaus- ja mittauselektroniikka 29, jossa sijaitsee myös valodetektorin 23 lähtösignaali. Ohjaus- ja mittauselektroniikan 29 mittauksen säätelyn avulla määritetään kapeajuovaisesti selektiivisesti ainoastaan se osa valodetektorin 23 sähköistä lähtösignaalia, joka vastaa PZT:n modulointitaajuutta. Elektroniset mittaussuomenetelmät, jotka mahdollistavat tämän, kuten esimerkiksi Lock-in-menetelmä, ovat tunnettuja ja niitä ei tarvitse selvittää lähemmin.

Kuten jo mainittiin, interferometriset mittaussuomenetelmät ja erityisesti menetelmä lyhyt-koherenssi-heijastus-interferometria (SCRI) tunnetaan muista käyttötarkoituksista. Tällöin käytetään lukuisia variaatioita ja erityisiä mittausteknisiä toimenpiteitä, jollaisia on kuvattu esimerkiksi edellä mainituissa kirjallisuusviitteissä. Näitä voidaan käyttää tässä kuvattujen tietojen perustana myös esillä olevan keksinnön puitteissa. Myöhemmin pohditaan ainoastaan esimerkkinä joitakin keksintöön sovellettujen erityistoimenpiteiden ja vaihtoehtojen mahdollisuuksia siihen, mitä tähän mennessä on kuvattu.

Monomode-valonjohtokuitujen geometrinen poikkileikkaus on niin pieni, että ne muodostavat määritellyn matkanpituuden omaavia valoteitä, toisin sanoen vältetään erilaiset valotiet erilaisten kuitujen seinämiin heijastumisten johdosta. On tavallista ja keksinnön puitteissa edullista laajentaa ohutta valonsädettä ennen kuin se osuu näytteeseen 14 tai heijastuspeiliin 20. Kuviossa 1 kuvatussa suoritusmuodossa edellytetään tällöin ainoastaan symbolisesti viitattuja optisia elementtejä 13a, 19a mittaussuulaitteen päässä 13 tai heijastussysteemiä 19. Laajennettu valonsäde, joka muodostaa osan näytehaaraa 4 tai referenssihaaraa 5, on kuvattu 4a:lla

5 tai 5a:lla. Säteily ja havaitseminen näytteen 14 rajapinnalla 15 tapahtuu kulloinkin määritellyllä tasoalueella. Sen suuruus täytyy optimoida ottaen huomioon signaalin intensiteetti ja syvyyssinformaation terävyys. Signaalin intensiteetti vastaa pikemminkin valon suurempaa läpäisyalueetta, kun taas koherenssin teho vähenee havaitun alueen suurentuessa. Tasopisteen, jonka läpi mittausvalo tulee näytteeseen 14 ja jonka sisällä näytteen läpi menevä valo määritetään mittausjärjestelmällä, halkaisija on edullisesti noin 0,1 mm
10 - 1 mm.

Kuvatun kuituoptisen järjestelyn sijasta voidaan käyttää periaatteessa myös vapaasädeoptiikkaa, jolloin optinen kytkin on säteenjakaja. Kuituoptiikka mahdollistaa kuitenkin erityisen kompaktin ja kustannuksiltaan edullisen rakenteen.
15

Modulaatiotekniikkaa voidaan vaihdella usealla tavalla. Heijastinta 20 itseään voidaan käyttää modulointiin, jos siihen lisätään oskilloivia värähtelyjä modulointitaajuutta vastaten. Tämä vaatii kuitenkin suhteellisen nopeata mekaanista liikettä.
20

On myös mahdollista työskennellä käyttäen useita erilaisia valolähteitä, joilla on eri aallonpituudet tai aallonpituusalueet. Eri valolähteiden valo voidaan kytkeä ylimääräisillä valonkytkimillä mittausvalotiehen.
25

Kuvatussa suoritusmuodossa toteutuu toisaalta kokonaismittausvalotien ja toisaalta referenssivalotien matkanpituuden suhteen vaihtelu siirtämällä akselin suuntaisesti heijastinta 20 referenssivalonsäteen optisella akselilla, kun taas näyte 14 sijaitsee määrätyllä ja vakiopaikalla suhteessa mittauspään 13 ulosmenoaukkoon 12. On myös periaatteessa mahdollista, joskin rakenteellisesti enemmän kustannuksia aiheuttavaa, vaihdella referenssivalotien 26 pituuden asemasta mittausvaloteiden 22 ja 24 pituutta, jolloin esimerkiksi mittauspäästä 13 voidaan siirtää suhteessa määrätyssä paikassa sijaitsevaan näytteeseen 14.
30
35

Kuvio 1 osoittaa keksintöön soveltuvan mittauslaitteen peri-

aatteellisen rakenteen. Käytännön toteutuksessa integroidaan kaikki kuvatut rakenne-elementit poikkeuksena ohjaus- ja mittauselektroniikka 29 yhteen ainoaan tiiviiseen mittausmoduuliin, joka voidaan painaa määrätyllä paikalla tasaisella painalluksella ihon pinnalle. Tällöin voi olla edullista pitää kunkin mittauskohdan lämpötila vakiona tai mitata se ja ottaa huomioon glukookonsentraatiota määritettäessä.

Kuvatulla lyhytkoherenssi-heijastusinterferometrillä on mahdollista mitata tarkoitettusti interferenssisignaaleja, jotka heijastuvat näytteen 14 määrätyltä syvyydeltä. Tällöin mittaus voidaan myös ulottaa suhteellisen syvälle kehossa olevaan kudokseen, kuten esimerkiksi retinaan eli silmän verkkokalvoon. Kuten on mainittu, edellytyksenä interferenssisignaalin esiintymiselle detektorissa 23 on, että valotiellä referenssivarressa 4 ja valotiellä näytehaarassa 5 mukaanlukien näytevalotie 16 on sama pituus (ne saavat poiketa toisistaan korkeintaan koherenssipituuden verran). Syvyyspyyhkäisyn (depth scan) mahdollistamiseksi, rakennetaan interferometri siten, että referenssihaaran 5 lyhin laitteeseen säädetty optinen matkanpituus on vähän lyhyempi kuin näytehaaran 4 optinen matkanpituus (valonkytkimestä 7 rajapintaan 15). Jos tästä asemasta lähtien referenssihaaraa pidennetään liikuttamalla heijastinta 20 (kuviossa 1 vasemmalta oikealle), niin tällöin esiintyy rajapinnalla 15 tapahtuvan Fresnel-heijastuksen vaikutuksesta voimakas signaalipiikki, jos mainitut matkanpituudet ovat yhtäläisiä. Referenssihaaraa 5 edelleen pidennettäessä siirtyy heijastuspiste 17 näytteessä 14 suurempien syvyyksien suuntaan, toisin sanoen näytetie 16 kasvaa, jolloin näytetien 16 optinen matkanpituus vastaa referenssihaaran 5 ja näytehaaran 4 optisten matkanpituuksien välistä eroa.

Interferenssisignaali esiintyy detektorissa 23 tällöin ainoastaan, jos näytteen 14 vastaavassa syvyydessä sijaitsee heijastava sirontakeskus 17. Biologisissa näytteissä on siroavien rakenteiden tiheys niin suuri, että lähes joka syvyyspyyhkäisyn säädölle heijastuu valoa. Luonnollisesti sirontakeskusten suuri tiheys ja absorboivien aineiden läsnä

olo biologisessa näytteessä 14 johtavat siihen, että suurin osa säteilystä valosta absorboituu tai häviää sironnan johdosta johonkin valotiellä olevista sirontakeskuksista. Lyhytkoherenssi-heijastusinterferometriä mahdollistaa kuitenkin selektiivisesti ainoastaan sellaisten fotonien havaitsemisen, jotka pääsevät siroamatta heijastavaan sirontakeskukseen 17 ja siitä takaisin rajapinnalle 15. Muut valon osaset eivät täytä koherenssiehtoa ja niitä ei tämän vuoksi havaita interferenssisignaalinä.

Analyyttinen glukoosikonsentraatio näytteessä voidaan määrittää kuviossa 1 kuvatulla mittauslaitteella käyttäen kolmea jo periaatteessa selvitettyä menetelmää seuraavasti.

Taitekerrointa vastaavan mittaussuureen määrittämiseksi kuvion 1 mukaisella heijastusjärjestelyllä käytetään edullisesti vaihtelevaa syvyyspyyhkäisyä. Referenssivalotien optisen matkanpituuden vaihtelumäärän suhteessa mittausvalotien optiseen matkanpituuteen tulee tällöin olla suurempi kuin valon keskimääräinen vapaa matkanpituus näytteessä. Edullisesti se on tähän matkanpituuteen nähden moninkertainen (esimerkiksi yksi tai kaksi millimetriä), joten heijastuspiste siirtyy syvyyspyyhkäisyn aikana usean sirontakeskuksen yli. Tällöin mitatulla interferenssisignaalinä on luonteenomainen rakenne riippuen pyyhkäisyvyydestä. Tämä interferenssisignaalinä rakenne vahvistaa optisen matkanpituuden rakenteen tuottavien sirontakeskusten välillä. Sen mukaisesti taitekertoimen muutos vaikuttaa glukoosikonsentraation muuttumisen vuoksi interferenssisignaalinä rakennetunnusmerkkien (esimerkiksi piikkien) väliseen välimatkaan. Esimerkiksi siis kahden määrätyn piikin välinen välimatka mainitussa interferenssisignaalinä rakenteessa (riippuen pyyhkäisyvyyden intensiteetistä) on glukoosikonsentraation mittana. Tämä välimatka voidaan määrittää interferenssisignaalinä rakenteesta, jolloin käytännössä ei käytetä edullisesti määrättyä välimatkaa kahden määrätyn piikin välillä, vaan koko rakennetunnusmerkkien välinen välimatka analysoidaan kuva-analyysimenetelmällä ja tulkitaan tarkoitukseen soveltuvilla numeerisilla menetelmillä.

Syvyyspyyhkäisy tapahtuu edullisesti oskilloiden, jolloin heijastimen siirtokäyrä on esimerkiksi kolmiomainen, sahanhampaan muotoinen tai sinin muotoinen. Tällöin arvot koostaan useista värähtelyistä signaali-/kohinasuhteen parantamiseksi.

Tällöin mittaukset tapahtuvat edullisesti mittausvalon useilla eri aallonpituuksilla. Koska taitekerron on aallonpituudesta riippuvainen, voidaan lisäinformaatiota saada suorittamalla mittaukset useilla aallonpituusalueilla. Yksinkertaisessa esimerkissä voidaan käyttää mittaustarkkuuden parantamiseksi kahta aallonpituutta, joista toisen taitekerroin on hyvin voimakkaasti riippuvainen glukosikonsentraatiosta ja toisen taitekerroin on mahdollisimman vähän riippuvainen glukosikonsentraatiosta.

Optisen matkan muutoksen suuruus, jonka glukosikonsentraation muutos fysiologisella alueella aiheuttaa, voidaan arvioida seuraavasti.

Glukosikonsentraation 1 mM suuruinen muutos vastaa 0,002 prosentin suuruista taitekertoimen muutosta. Näytevalotien 16 kokonaispituuden ollessa noin 2 mm (läpäisyisyvyys näytteeseen 1 mm) siirretään optista matkaa noin 40 nm:llä. Mittausvalon aallonpituuden ollessa 800 nm, tämä vastaa noin 10°:n faasinsiirtoa. Tämä muutos voidaan määrittää mittausteknisesti niin hyvin, että saavutetaan diabeetikoiden glukositasen kontrollointiin riittävä mittaustarkkuus.

Jotta toisessa menetelmässä saataisiin glukosikonsentraation määrittämiseksi interferenssisignaalista mittaussuure, joka vastaa siroavien osasten sirontapoikkileikkausta biologisessa näytteessä, määritetään interferenssisignaalin I intensiteetti näytevalotien 16 eri pituuksille, siis eri läpäisyisyvyyksille x . Tätä tarkoitusta varten säädetään referenssivalotien 26 pituus eri arvoiksi siirtämällä heijastinta 20 akselin suunnassa. Käytännössä tämä tapahtuu tarkoituksenmukaisesti myös tässä tapauksessa oskilloiden. Heijastimen 20 eri säädöt aikaansaavat automaattisesti mittaukset, joilla voidaan määrittää intensiteetin I riippu-

vuus $I(x)$ läpäisyisyvyydestä x halutulla läpäisyisyvyysalueella. Mitä mittaustarkkuuteen tulee, funktio $I(x)$ tulee mitata läpäisyisyvyyden x mahdollisimman suuren alueen kautta. Käytännössä mahdollisia ovat edustettuina olevilla intensiteeteillä tämän hetkisen kokeellisen tutkimuksen tason mukaan noin 2 mm läpäisyisyvyydet. Mitä suurempi on pyyhkäisty läpäisyisyvyysalue, sitä suuremmaksi tulee pyyhkäisty geometrinen pituus ja sitä paremmaksi mittaustarkkuus. Monissa käyttötapauksissa voi kuitenkin olla myös toivottavaa tutkia ainoastaan pieni syvyysalue, jotta glukosikonsentraatio voidaan määrittää määrättyssä syvyydessä ihon pinnan alla.

Sirontapoikkileikkauksen korrelaatio glukosikonsentraatioon voidaan selvittää siten, että sirontapoikkileikkaus on kudoksen heterogeenisessä systeemissä riippuvainen sirontakeskusten taitekertoimen suhteesta kudoksen taitekertoimeen. Jos viimeksi mainittu taitekerroin muuttuu glukosikonsentraation muuttumisen johdosta, niin myös sirontapoikkileikkaus muuttuu.

Edellä kuvatussa mittausmenetelmässä glukosikonsentraation laskeminen voi tapahtua mitatusta mittaussuureesta $I(x)$ sirontapoikkileikkauksen selvän laskennan kautta, kuten on kuvattu edellä siteeratuissa julkaisuissa: Schmitt et al. Käytännössä on kuitenkin parempi käyttää numeerista korrelatiomenetelmää, jossa saatujen mittausarvojen kokonaisuutta korreloidaan kalibroimalla (koventionaalisisista mittauksista tunnetuilla) glukosikonsentraatioilla. Tähän tarkoitukseen käytetään tavallisesti esimerkiksi partial least square (PLS)-menetelmää.

Kuvio 2 osoittaa tämän menetelmän kokeelliset tulokset. Mittaukset suoritettiin käyttäen ihon kokeellista mallia, joka koostui lateksiosasten sirontaliuoksesta, jonka kiinteäainepitoisuus oli 2,5 painoprosenttia ja halkaisija $0,2 \mu\text{m}$. Tässä nesteessä suoritettiin edellä kuvatulla tavalla syvyysspyyhkäisy käyttäen SCRI:tä, jonka periaatteellinen rakenne vastasi kuviota 1. Kuviossa 3 on kuvattu mitattu

intensiteetin muutos (dB:nä) riippuen läpäisyysvyydestä x . Alempi suora osoittaa puhtaalla vedellä (H_2O) saadut mittaustulokset, ylempi suora osoittaa 400 millimoolilla glukosiliuosta ($Gl =$ glukosi) saadut mittaustulokset. Tästä
 5 nähdään, että mittaussuure $I(x)$ muuttuu selvästi glukosikonsentraatiosta riippuen.

Jotta kolmannessa menetelmätavassa saataisiin glukosikonsentraation määrittämiseksi interferenssisignaalin spektri-
 10 riippuvuus, ei välttämättä tarvita informaatiota interferenssisignaalin I riippuvuudesta läpäisyvyydestä x . Toisin sanoen voidaan työskennellä käyttäen referenssivalotien 26 matkanpituuden vakiosäätöä (samoin kuin glukosin määrityksessä taitetertoimen avulla). Mutta myös tällöin voi kuitenkin
 15 olla edullista saada lisäinformaatiota toistamalla mittaustulos referenssivalotien eri matkanpituuksilla ja tämän mukaisesti näytevalotien eri pituuksilla.

Tässä menetelmässä varsinainen analyysi perustuu, kuten jo
 20 mainittiin tunnettuihin spektroskooppisiin periaatteisiin. Näin voidaan esimerkiksi työskennellä, kuten kaksiaallonpituus-spektroskopiassa, mittaustuloksen kahdella eri aallonpituudella, jolloin mittausaallonpituus L_1 on valittu aallonpituusalueella, jossa absorptio on voimakkaasti riippuvainen
 25 glukosikonsentraatiosta, kun taas toisella aallonpituudella L_2 , jota kuvataan referenssiaallonpituudeksi, absorptio on mahdollisimman vähän riippuvainen glukosikonsentraatiosta.

Sillä, että SCRI-menetelmän interferenssisignaali on tehty spektrianalyyttisen tutkimuksen perustaksi, vältetään tähän
 30 astisten menetelmien merkittävä virhelähde, nimittäin epävarmuus valotiehen tai siihen tosiasiaan nähden, että eri matkanpituuksissa täytyy ottaa huomioon eri valotiet näytteessä. Spektroskopiassa tulee optisen matkanpituuden, jonka
 35 havaittu valo on kulkenut näytteessä, olla vakio tai vähintään toistettava. Tämä taataan keksinnön mukaisella menetelmällä, koska kulloinenkin "kyvetinpituus", siis näytevalotie, jonka valo kulkee näytteessä, on määritetty säätämällä

referenssivalotien matkanpituus.

Kuvio 3 osoittaa transmissio-interferometrin, jossa valo ei heijastu näytteestä 14, vaan läpäisee sen. Tällaista järjestelyä käytetään biologisten nesteiden ohuiden kerrosten tutkimuksessa tai myös glukosin in vivo-määrityksessä vastaviltilta ohuilta ihopoimuilta (sormien välistä tai korvalehdiltä). Valolähteestä 10 johdetaan mittausvalo ensimmäiseen valonkytkimeen 32, joka jakaa valoenergian kahdeksi osaksi, joista ensimmäinen osa johdetaan näytteeseen 14 ja toinen osa referenssijärjestelmään 33, jolla on määritelty, edullisesti säädettävä valotien pituus.

Näytteen 14 läpäisevä mittausvalo johdetaan toisen valonkytkimen 34 kautta detektoriin 23. Valonkytkimessä 34 tapahtuu mittausvalon yhdistäminen referenssijärjestelmästä 33 tulevan referenssivalon kanssa.

Mittausvalon matkaa valolähteestä 10 ensimmäisen valonkytkimen 32 kautta näytteen 14 ensimmäiselle rajapinnalle 35, jonka mittausvalo läpäisee, nimitetään primaarimittausvalotieksi 37. Valon matka takimmaiselta rajapinnalta 38, jonka läpi valo poistuu näytteestä 14, sen jälkeen, kun se on kulkenut näytteessä 14 näytevalotien 16, aina valodetektoriin 23, on sekundaarimittausvalotie 39. Valon matka valolähteestä 10 ensimmäisen valonkytkimen 32 ja referenssijärjestelmän 33 sekä toisen valonkytkimen 34 kautta valodetektoriin 23 muodostaa referenssivalotien 40. Referenssivalotien 40 pituus on muuttuva, jolloin säätö voidaan toteuttaa esimerkiksi kuvassa esitetyllä tavalla kahdella peilillä 41 ja 42 ja säteen suunnassa 43 siirrettävällä prismalla 44. Samoin kuin kuviossa 1, modulointiin tarvitaan PZT 27 johonkin valoteistä, kuvatussa tapauksessa sekundaarimittausvalotieksi 39. Optisia elementtejä 46 ja 47 käytetään säteen laajentamiseksi ennen näytettä 14 ja sekundaarimittausvalon kytkemiseksi kuituvalonjohtimeen, joka muodostaa suurimman osan sekundaarimittausvalotiestä 39.

Kuvion 3 mukaisessa transmissiojärjestelmässä on näytevalo-

tien 16 geometrinen matkanpituus näytteessä kiinteä. Taite-
 kertoimen muutos näytteessä 14 johtaa optisen matkapituuden
 muutokseen. Tämä voidaan mitata välittömästi kuvatulla jär-
 jestelyllä. Jos käytetään valolähdettä 10, jossa on lyhytko-
 herentti valo ja jos ensimmäisen glukosikonsentraation koh-
 5 dalla referenssivalotien 40 pituus on säädetty siten, että
 detektorissa 23 mitataan interferenssisignaali, niin silloin
 kokonaismittausvalotiellä, joka koostuu primaarimittausvalo-
 tiestä 37, näytevalotiestä 16 ja sekundaarimittausvalotiestä
 10 39, on sama optinen matkanpituus kuin referenssivalotiellä.
 Jos glukosikonsentraatio muuttuu tämän jälkeen ja täten
 näytevalotien 16 optinen matkanpituus muuttuu, pitää inter-
 ferenssisignaalin säilyttämiseksi muuttaa referenssivalotien
 pituudensäätöä, joka on glukosikonsentraation välitön
 15 mitta.

Käytettäessä valolähdettä 10, jolla on suuri koherenssi-
 tuus, kuten esimerkiksi laserilla, on näytevalotien 16 opti-
 sen matkanpituuden muutos samoin mahdollista mitata mittaa-
 20 malla faasinsiirto PZT:hen johdetun modulaatiosignaalin ja
 interferenssisignaalin vastaavan modulaation välillä.

Lopuksi voidaan interferenssisignaalista määrittää kuvion 3
 mukaisessa järjestelyssä jälleen glukosikonsentraatio tut-
 25 kimalla sen spektririippuvuutta. Sekä kuvion 1 mukaisessa
 järjestelyssä että myös kuvion 3 mukaisessa järjestelyssä ei
 tällöin määritetä edullisesti primaarivalon spektrijakautu-
 maa, esimerkiksi kytkemällä useamman eri valodiodin valo.
 Pikemminkin käytetään ainoastaan valolähdettä 10, jolla on
 30 leveäjuovainen spektri ja jonka spektrijuovan leveys peit-
 tää koko halutun aallonpituusalueen. Referenssivalotien 26
 tai 40 matkanpituutta muutetaan oskilloiden (liikuttamalla
 elementtejä 20 tai 43) ja tällöin mitatuista interferenssi-
 malleista saadaan laskemalla Fourier-muunnos-spektrometrian
 35 tunnetulla menetelmällä spektririippuvuus.

Keksinnön edullisena pidetyn suoritusmuodon mukaisesti, jota
 selvennetään seuraavassa kuvioiden 4 - 8 avulla, käsittää
 biologinen näyte silmän kammioveden silmän etukammiossa.

Mittaus keskittyy ainoastaan silmän etukammioon, mutta kuitenkin on myös mahdollista ottaa mittaukseen mukaan muita (syvemmällä sijaitsevia) silmän osia.

- 5 On jo pitkään keskusteltu mahdollisuudesta määrittää glukosikonsentraatio silmän etukammioista (anterior chamber) käyttäen apuna glukosikonsentraatiosta riippuvaista kammioveden (aqueous humour) optista ominaisuutta. Vuonna 1976 julkais-
- 10 tussa US-patentissa 3,958,560 kuvataan esimerkiksi mahdollisuutta suunnata valonsäde silmän etukammion puolelta tylpässä kulmassa siten, että etukammio kulkee sekanttia pitkin sarveiskalvon kaarteeseen suoraviivaisesti ja poistuu toista puolta (jälleen tylpässä kulmassa) ("etukammio-transmissio-
- 15 menetelmä"). Menetelmät, joissa valo on suunnattu edestä (lähes suorassa kulmassa sarveiskalvon kaarteeseen nähden) etukammioon ja tästä heijastunut valo havaitaan ("etukammio-heijastusmenetelmä"), tunnetaan esimerkiksi eurooppalaisista patenttihakemuksista 0 589 191 ja 0 603 658. Näissä julkai-
- 20 suissa pohditaan polaroidun valon optista kiertymistä ja (spektroskooppisesti mitattua) optista absorptiota mittaus-
- suureina.

- Myös esillä olevan keksinnön puitteissa on periaatteessa mahdollista työskennellä käyttäen silmän etukammio-transmissiomenetelmää, jolloin voidaan käyttää kuvion 3 mukaista mittaustekniikkaa. Edullisena pidetään kuitenkin etukammio-heijastusmenetelmää lyhytkoherenssi-heijastusinterferometrin (SCRI) avulla, kuten on kuvattu esimerkiksi kuviossa 1. Tällöin mitataan edullisesti valon mittaussuure, joka vastaa
- 25 kammioveden taitekerrointa silmän etukammiossa. Tällöin on edullista, että kammiovesi on etukammiossa jatkuvasti optisesti homogeenista ja tämän mukaisesti valo ei käytännössä siroa.

- 35 Mittausjärjestelmän periaate on esitetty kuviossa 4. Primaarimittausvalotie 22 on muodostunut siten, että mittausvalo kohdistuu edestä (geometrisesti ilmaistuna siis terävän kulman alta kohtisuorasti sarveiskalvon 52 pintaa vastaan) silmän 56 etukammioon 54. Silmästä, erityisesti silmän lins-

sin 58 ulkopinnalta 57 takaisin heijastunut valo läpäisee sarveiskalvon 52 jälleen lähes suorassa kulmassa (tarkemmin ilmaistuna terävässä kulmassa kohtisuorasti sarveiskalvon 52 pintaa vastaan) ja kohdistuu sekundaarimittausvalotiehen 24.

5

Kuten jo mainittiin, tässä suoritusmuodossa käytetään edullisesti lyhytkoherenssi-heijastusinterferometriä, jolla on kuvion 1 periaatteelliset tunnusmerkit. Kuten siinä jo esitettiin, on erityisen edullista, että primaarimittausvalotie 22 ja sekundaarimittausvalotie 23 kohdistuvat yhdessä näytteeseen johtavaan näytehaaraan 4 (toisin sanoen näytehaara 4 on molemmille mittausvaloteille yhteinen). Tässä tapauksessa näytehaaran 4 laajennettu valonsäde 4a muodostaa tarkoituksenmukaisesti valotieosuuden ennen silmää 56.

15 Näytevalotie 16 kulkee heijastusmittauksessa kuvion 4 mukaisessa silmässä etukammiossa 54 olevan kammioveden 62 läpi valontulopaikalta 59 heijastuspaikkaan 60 ja sitten tulosuunnassa valon poistumispaikkaan 61. Rajapinta 15 muodostuu silmämunaan suunnatun sarveiskalvon 52 sisäpinnasta 52a. Kuvatussa suoritusmuodossa, jossa on yhteinen näytehaara 4

20 primaarimittausvalotielle 22 ja sekundaarimittausvalotielle 24, tulopaikka 59 ja poistumispaikka 61 ovat samassa kohdassa sarveiskalvoa 52. Periaatteessa on kuitenkin mahdollista (joskin vähemmän edullista) työskennellä käyttäen säderataa, jossa primaarimittausvalotien 22 ja sekundaarimittausvalotien 24 näytehaara 4 ei ole yhteinen, joten mittausvalon tulopaikka ja poistumispaikka sijaitsevat eri kohdissa sarveiskalvoa 52 ja tulopaikan ja heijastuspaikan välinen näytevalotie ei myöskään ole yhteneväinen heijastuspaikan ja

25 poistumispaikan välisen näytevalotien kanssa. Tällaista säteenkulkua on kuvattu esimerkiksi julkaisussa EP 0 603 658 A1.

35

Kuviossa 5 kuvattu kokeellinen malli on muodostunut siten, että pääasialliset reunaehdot vastaavat ihmisen silmässä suoritettua mittausta. Mittausvalo suunnataan tullen SCRI:n näytehaarasta 4 halkaisijan ollessa esimerkiksi 50 μm kyvetiin 64, joka simuloi etukammiota 54. Tulo-rajapinnan 15 muodostaa tällöin etummaisen kyvetinlasin 65 sisäpinta, kun

taas heijastuspaikka 60 sijaitsee takimmaisena kyvetinlasi-
 66 sisäpinnalla. Käytännön kokeissa valittiin kyvetin pituu-
 deksi $k = 1$ mm. Tästä saadaan näytevalotien 16 kokonaispituu-
 deksi ("Roundtrip-pituus") 2 mm. Ihmisen silmässä etukammion
 5 paksuus on noin 3 mm, mistä saadaan näytevalotien 16 koko-
 naispituudeksi 6 mm. Mikäli kokeet suoritettiin kuviossa 5
 kuvatulla koemallilla vaikeutetuissa olosuhteissa.

10 Kuviossa 6 kuvatut interferogrammit mitattiin käyttäen
 kuvion 5 mukaista koemallia ja seuraavia mittausehtoja.

SCRI:n mittausjärjestely vastasi pääasiallisesti kuviota 1.
 Valolähteenä käytettiin superluminesenssidiodia, jonka teho
 oli 0,5 mW ja keskiaallonpituus 850 nm. Kyvetti 64 koostui
 15 supراسиили-kvartsilasista ja se täytettiin glukoosi/vesi-
 liuoksilla, joilla oli eri konsentraatiot. Tällöin lähdet-
 tiin kulloinkin 100 mM:n glukoosikonsentraatiosta ja kon-
 sentraatio puolitettiin mittausmittaukselta, kunnes saavu-
 tettiin arvo 1,56 mM. Kyvetin lämpötila oli termostoitu 22
 20 °C:n lämpötilaan ± 1 °C. Heijastimena 20 käytettiin kuutio-
 kulma-heijastinta (corner cube reflector), jota liikuteltiin
 oskilloiden nopeudella 7,9 mm/s. Kuvion 1 yhteydessä on jo
 selvitetty mahdollisuutta toteuttaa samalla syvyyspyyhkäisy
 (depth scan) ja valotien pituuden modulointi käyttäen oskil-
 25 loiden liikkuva heijastinta 20. Tuolloin haittapuolena mai-
 nittu heijastimen 20 suhteellisen nopea mekaaninen liike
 vaikuttaa suhteellisen vähän silmässä suoritetuissa mittauk-
 sissa suhteellisen vähäisen kokonaispyyhkäisyvyyden vuoksi
 (silman etukammion paksuus).

30

Interferogrammin tulkitsemiseksi käytettiin mittausarvojen
 käsittelyohjelmaa (data acquisition software), joka mahdol-
 listi sen, että koko syvyyspyyhkäisyalueen sisällä voitiin
 säätää kaksi osa-aluetta ("ikkunaa") pääheijastusten taust-
 35 tana, jolloin pääheijastukset esiintyvät etummaisena kyvetin-
 lasin 65 takapinnalla ja takimmaisena kyvetinlasi-
 etupinnalla 66. Näitä heijastuspisteitä kuvataan kuviossa 5 A:lla ja
 B:llä. Ne vastaavat luonnollisessa silmässä tulokohtaa 59
 (sarveiskalvon ja kammioveden välinen rajapinta) ja heijas-

tuskohtaa 60 (kammioveden ja linssin välinen rajapinta).

Kuvion 5 mukaisessa koemallissa on näiden molempien intensiteetiltään voimakkaimpien heijastusten välinen etäisyys 1 mm. Vastaavasti molemmissa kuviossa 6 kuvatuissa syvyyspyyhkäisyn ikkunoissa (pituusasteikko, jossa on mielivaltaisen nollapiste) esiintyvät interferogrammit noin 150 μm :ssä ja noin 1150 μm :ssä, siis 1000 μm :n välimatkan päässä toisistaan.

Kuvion 6 mukaisista interferogrammeista voidaan saada informaatiota valon optisesta matkanpituudesta heijastuspisteiden A ja B välillä seuraavasti.

Kuvion 6 mukaiset interferogrammit digitalisoidaan ja niille suoritetaan DSP (Digital Signal Processing)-prosessorilla nopea Fourier-muunnos (fast fourier transformation, FFT). Muunnettujen tulosten moduulit heitetään pois. Ainoastaan faasien tulokset käsitellään edelleen. Julkaisun W. L. Danielson et al.: "Absolute optical ranging using low coherence interferometry", Appl. Opt. 30, 2975 (1991) mukaisesti voidaan niin sanotusta "Phase Slope:sta" eli faasin kaltevuudesta (faasin funktionaalisen riippuvuuden taajuudesta kasvaessa) saada optisen matkanpituuden mitta, joka puolestaan on taitekertoimen n ja geometrisen matkanpituuden tulo.

Kuvio 7 kuvaa FFT:n avulla molemmista kuvion 6 interferogrammeista määritetyn faasin riippuvuutta (mitattu radiaaneina) x-akselilla esitetystä taajuudesta (mitattu kHz:na) riippuen. Näiden suorien nousukulmaa kutsutaan nimellä Phase Slope PS. Danielsonin julkaisun mukaisesti taitekerroin saadaan välittömästi molempien PS-arvojen erosta DPS (faasin kaltevuuksien välinen ero) heijastuspisteissä A ja B seuraavan yhtälön mukaisesti:

$$(1) \quad n = v/\pi \cdot l_g \cdot \text{DPS}$$

Yhtälössä v on heijastimen liikkeen nopeus ja l_g on geometrinen kokonaismatkan pituus (kaksinkertainen etäisyys A:n ja

B:n välillä).

Tällä tavalla voidaan määrittää taitekerroin n näytteessä glukoosikonsentraation mittana. Valosta mitattu mittaussuure (toisin sanoen glukoosikonsentraation kanssa korreloiva valon määrällinen parametri) on DPS-arvo. Eri glukoosikonsentraatioille mitattujen DPS-arvojen korrelaatio glukoosikonsentraation kanssa on kuvattu kuviossa 8 logaritmi-asteikossa, jolloin DPS on esitetty Y-akselilla ja konsentraatio C X-akselilla. Kuviossa 8 esitetyt pisteet kuvaavat seitsemän glukoosikonsentraation mittauservoja, jotka mitattiin kulloinkin käyttäen 32 pyyhkäisyä (scans) kahdenkymmenen sekunnin sisällä. Tämän mittauksen virherajat on esitetty risteillä. Läpivedetty viiva on "best linear fit" kaikille mittauspisteille. Tällöin on kaareva osa alhaisilla arvoilla seurausta siitä tosiasiasta, että käyrä ei kulje tarkasti nollapisteen läpi.

Käyrän muoto vastaa DPS-arvon muutosta glukoosikonsentraation $2,055 \times 10^{-5}$ rad/Hz /mM glukoosi muutosyksikköä kohti. Yhtälön (1) mukaan siitä voidaan laskea taitekertoimen muutos glukoosikonsentraation $2,58 \times 10^{-5}$ /mM yksikköä kohti. Tämä vastaa tämän suureen hyvin tarkasti konventionaalisesti mitattuja arvoja.

25

Ihon pinnasta suoritetuilla mittauksilla voidaan saavuttaa primaari- ja sekundaarimittausvalotien jatkuva vakioipituus siten, että mittauslaitteen pää (kuvio 1) painetaan tasaisella painalluksella ihoa vasten. Tämä koetaan silmässä epämiellyttäväksi. Sen vuoksi työskennellään edullisesti ilman kontaktia, toisin sanoen valoa kohdistavat laitteet, joilla mittausvalo suunnataan SCRI:stä silmään, on kiinnitetty mahdollisimman vakioetäisyydelle silmästä, jolloin tämä vakioetäisyys taataan silmätautiopissa näihin tarkoituksiin tavanomaisin keinoin, esimerkiksi vastaavalla kasvomaskilla (vrt. EP-0 603 658 A1). Tällöin ei voida välttää vaihteluita, jotka ovat kuitenkin liian suuria, glukoosianalyysissä tulkintakelpoisten interferogrammien mittaamiseksi ilman eri toimenpiteitä.

Tämän vuoksi mitataan edullisesti, kuten jo edellä kuvattiin, kahden heijastuksen interferogrammit silmästä, jolloin ensimmäisen heijastuksen heijastuspaikka on ennen silmän etukammiota (sen silmämunasta poispäin käännetyllä puolella), kun taas toinen heijastuspaikka on etukammion takana (sen silmämunaan päin käännetyllä puolella). Ensimmäisen heijastuksen heijastuspaikkana on tällöin edullisesti silmän sarveiskalvon 52 kammioveden kostuttama rajapinta 52a, kun taas toisen heijastuksen heijastuspaikkana on silmän linssin (mykiön) 58 kammioveden kostuttama ulkopinta. Vaihtoehtoisesti voi ensimmäisen heijastuksen heijastuspaikka olla silmän sarveiskalvon ulkopinnalla, kun taas toisen heijastuksen heijastuspaikka voi olla vaihtoehtoisesti silmän värikalvon tai myös silmän linssin ulkopinnalla. Myös syvemmällä silmässä oleva heijastuspaikka, erityisesti verkkokalvon pinnalla, on periaatteessa mahdollinen.

Edellä olevat tulokset osoittavat, että taitekerroin ja täten silmän etukammion kammioveden glukosikonsentraatio voidaan määrittää hyvin tarkasti interferogrammeista. Osoitusraja liian alhaisiin glukosikonsentraatioihin on tällöin oleellisesti riippuvainen mittauksen signaali-kohina-suhteesta (SNR). Sitä voidaan alentaa mittausteknisellä optimoinnilla niin paljon, että voidaan analysoida koko fysiologinen glukosikonsentraatioalue.

Suoritettaessa mittaukset elävästä silmästä on päinvastoin kuin kuvion 4 mukaisessa kokeellisessa mallissa lähdettävä siitä, että geometrinen valotiepituus l , ei ole koko ajan vakio, vaan vaihtelee silmän etukammion 54 pienten muutosten seurauksena. Tässä tapauksessa on edullista, jos taitekerroin tai glukosikonsentraatio voidaan määrittää riippumatta ihmisen elävässä silmässä esiintyvistä etukammion paksuuden ja täten geometrinen valotien vaihteluista näytteessä. Tämä on mahdollista suoritettaessa mittaukset vähintään kahdella eri aallonpituudella, seuraaviin mietintöihin perustuen.

Vedessä olevalle glukosiliuokselle voidaan ilmaista DPS jokaiselle aallonpituudelle seuraavasti:

$$(2) \quad \begin{aligned} \text{DPS}_1 &= (n_{w1} + c \cdot dn_{g11}) l_g \cdot K \\ \text{DPS}_2 &= (n_{w2} + c \cdot dn_{g12}) l_g \cdot K \end{aligned}$$

Siinä indeksit 1 ja 2 kuvaavat molempia aallonpituuksia, n_w on veden taitekerroin ja dn_{gi} on taitekertoimen kasvava muutos kutakin glukosikonsentraatioyksikköä kohti. Glukosikonsentraatio on kuvattu c :llä. K on vakio.

Jos DPS normitetaan mille tahansa halutulle glukosikonsentraatiolle (esimerkiksi 5 mM:n glukosikonsentraatiolle) nolllaksi, niin tällöin kaavat (2) voidaan muotoilla uudelleen suhteellisen (prosentuaalisesti) pienillä geometrinen matkanpituuden l_g muutoksilla:

$$(3) \quad \begin{aligned} \text{DPS}_1 &= (dl_g \cdot n_{w1} + c \cdot l_g \cdot dn_{g11}) \cdot K \\ \text{DPS}_2 &= (dl_g \cdot n_{w2} + c \cdot l_g \cdot dn_{g12}) \cdot K \end{aligned}$$

Nämä yhtälöt voidaan ratkaista ilman muuta c :n mukaan, jolloin geometrinen matkanpituuden l_g tuntematon muutos dl_g jää pois. Tulokseksi saadaan:

$$(4) \quad c = \frac{\text{DPS}_1 - (n_{w1}/n_{w2}) \cdot \text{DPS}_2}{K \cdot l_g [dn_{g11} - (n_{w1}/n_{w2}) dn_{g12}]}$$

25

Yhtälön vielä sisältämä geometrinen matkanpituus l_g on tämän suureen keskiarvo ottamatta huomioon prosentuaalisesti pieniä vaihteluita dl_g . Tämä keskiarvo voidaan määrittää riittävän tarkasti molempien interferogrammien suhteellisesta sijainnista (ottaen huomioon keskimääräinen taitekerroin). Tämän määrittämisen tarkkuus on parempi kuin glukosikonsentraation kliinisessä määrittämisessä vaadittava tarkkuus. Tämän mukaisesti glukosikonsentraatio voidaan määrittää yksipistekalibroinnin avulla, jolloin potilas määrittää yhdessä ainoassa (tarkoituksenmukaisesti aika ajoin toistettussa) kalibrointivaiheessa konventionaalisella menetelmällä veren glukosikonsentraation. Kuvattu menetelmä tarjoaa periaatteessa jopa mahdollisuuden määrittää taitekerroin absoluuttisesti ja täten glukosikonsentraatio ilman kalibroin-

35

tia.

Kuvioissa 9 - 11 on kuvattu kokeelliset arvot taitekertoimen riippuvuudesta valon aallonpituudesta ja tämän vaikutuksen kokeellisesta hyödyntämisestä esillä olevan keksinnön puitteissa.

Kuvio 9 kuvaa glukoosiliuoksen kasvavaa taitekerrointa (n_r) veteen nähden, toisin sanoen glukoosiliuoksen taitekertoimen ja veden taitekertoimen välistä erotusta. n_r on esitetty mielivaltaisina yksikköinä (a.u. = arbitrary units) aallonpituutta L vastaan ($\mu\text{m:nä}$). Esityksestä voidaan havaita, että taitekerroin muuttuu suhteellisen voimakkaasti määrätyillä aallonpituusalueilla. Tällaisten kokeellisten tulosten avulla asiantuntija voi valita sopivan aallonpituusparin, jossa taitekertoimen eron tulee olla edullisesti mahdollisimman suuri.

Kuviossa 9 havaittava maksimi aallonpituusalueella noin 1450 nm johtuu veden syrjäytymisestä glukoosin vaikutuksesta vesi-absorptiojuova-alueella. Heikko olkapää aallonpituusalueella 1570 nm johtuu glukoosiabsorptiojuovasta. Tätä eroa voitiin lisäksi käyttää glukoosin vaikutusten erottamiseksi muihin parametreihin nähden.

Käyttäen perustana kuviossa 9 kuvattuja mittauksia suoritettiin kokeelliset tutkimukset käyttäen kokeellisena mallina silmän etukammiota, joka vastasi kuviota 5, jolloin kuitenkin lähdettiin siitä, että kyvetinpituus k on tuntematon tai muuttuu tuntemattomalla tavalla.

Näiden tutkimusten tulokset on esitetty kuvioissa 10 ja 11. Kuvio 10 osoittaa taitekertoimen n muutoksen glukoosikonsentraation funktiona kummallekin kuviossa ilmoitetulle aallonpituudelle (1300 ja 1550 nm) riippuen millimoolleina ilmoitetusta glukoosikonsentraatiosta C . Kuvatut taitekerroin-arvot saatiin kaavan (1) mukaisesti DPS-arvoista (kuten kuvion 6 ja 7 yhteydessä on kuvattu). Tällöin tehtiin normalisointi tunnettuihin puhtaan veden taitekertoimen taulukko-arvoihin siten, että l_r :n tunteminen ei ole tarpeen.

Kuviossa 11 on esitetty kuvion 10 mittausarvojen ero dn mukaanlukien glukoosikonsentraation virheet. Tällöin havaitaan virherajan sisällä selvästi mitattava eri taitekertoimen dn riippuvuus glukoosikonsentraatiosta. dn :n mittaustarkkuus ei ole paljolti riippuvainen geometrisen matkanpituuden (toisin sanoen kyvetinpituuden k) pienistä vaihteluista. dn on tämän vuoksi sopiva mittaus suure glukoosikonsentraation määrittämiseksi tapauksissa, joissa näytevalotien geometrinen matkanpituus ei ole vakio.

10

Vaikkakin edellä selvitetty mittausperiaate (pääinvastoin kuin tavanomaisessa spektroskooppisessa mittauksessa) ei välttämättä vaadi detektiovaiheiden suorittamista useilla valon aallonpituusalueilla, voi olla edullista suunnata mittausvalo useilla eri aallonpituuksilla ja tulkita tällöin havaittu valo kulloinkin edellä kuvatulla tavalla. Voi myös olla tarkoituksenmukaista yhdistää kuvattuun menetelmään optisen absorption mittaukset. Tällöin mittaustarkkuutta voidaan parantaa ja samalla voidaan vähentää erityisesti kammioveden sisältämien muiden aineiden, esimerkiksi askorbiinihapon, aminohappojen ja maitohapon aiheuttamia mittaus- tuloksissa esiintyviä häiriöitä ja vääristymiä, jotka voivat häiritä glukoosinmäärittystä. Tämän lisäksi tällä tavalla voidaan vähentää silmän etukammion lämpötilanvaihteluun liittyvää mittausvirhettä.

15

20

25

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä glukoosikonsentraation määrittämiseksi analyyt-
 tisesti biologisesta näytteestä, jossa menetelmässä mittausva-
 lo suunnataan valolähteestä detektiovaiheessa primaarimittaus-
 5 valotietä pitkin näytteeseen ja näytteen läpi mennyt valo
 johdetaan sekundaarimittausvalotietä pitkin valodetektoriin ja
 detektori havaitsee sen, tarkoituksena määrittää biologisen
 näytteen kanssa vuorovaikutuksessa oleva valon muuttuva,
 mitattavissa oleva fysikaalinen ominaisuus, joka korreloi
 10 biologisen matriisin glukoosikonsentraation kanssa, jolloin
 osa valolähteestä suunnatusta valosta johdetaan referenssi-
 valotietä pitkin, jolla on määritelty optinen matkanpituus
 valodetektoriin, sekundaarimittausvalotie ja referenssivalotie
 yhdistetään ennen valodetektoria siten, että sekundaarivalo ja
 15 referenssivalo interferoivat keskenään, valodetektori mittaa
 interferenssisignaalin ja tulkintavaiheessa määritetään glu-
 koosikonsentraatio interferenssisignaalin perusteella, t u n -
 n e t t u siitä, että
 mittausvalo kulkee näytteen sisällä näytevalotietä pitkin,
 20 joka on osa primaarimittausvalotiestä, näytevalotiestä ja
 sekundaarimittausvalotiestä koostuvaa kokonaismittausvalo-
 tietä, jolla on määrätty optinen matkanpituus, ja tulkintavai-
 heessa glukoosikonsentraatio määritetään ottaen huomioon
 näytevalotien optinen matkanpituus.

25 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t -
 t u siitä, että optista matkanpituutta moduloidaan vähintään
 yhdessä valoteistä modulointisignaalilla ja interferenssi-
 signaali tulkitaan modulointisignaalia käyttäen.

30 3. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen
 menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valo heijastuu takai-
 sin referenssivalotietä heijastavan optisen elementin kautta
 tulosuuntaan.

4. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että vähintään yhden valotien optinen matkanpituus on muuttuva ja saatetaan useammaksi eri pituudeksi.

5

5. Patenttivaatimuksien 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että referenssivalotien optinen matkanpituus on muuttuva ja saatetaan useammaksi eri pituudeksi.

10

6. Patenttivaatimuksen 4 tai 5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että optista matkanpituutta muutetaan oskilloiden.

15

7. Patenttivaatimuksen 5 tai 6 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että optista matkanpituutta muutetaan liikkuttamalla heijastavaa optista elementtiä.

20

8. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valolähde tuottaa valoa, jonka lyhyt kohorenssipituus on korkeintaan 50 μm , edullisesti korkeintaan 10 μm .

25

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että primaarimittausvalotie ja sekundaarimittausvalotie kulkevat samassa, näytteen rajapinnan määrittämisessä puolitiilassa niin, että näytteestä heijastunut valo tulee sekundaarimittausvalotielle.

30

10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että primaarimittausvalotie ja sekundaarimittausvalotie yhtyvät osittain ja optista kytkijää käytetään sekä primaarinäytevalotien ja referenssivalotien jakamiseksi että myös sekundaarimittausvalotien ja referenssivalotien yhdistämiseksi.

35

11. Patenttivaatimuksen 9 tai 10 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että glukoosikonsentraation määrittämiseksi

useat eri kokonaismittausvalotien matkanpituuksien suhteet suhteutetaan referenssivalotiehen, jolloin referenssivalotien optinen matkanpituus on suurempi kuin primaarimittausvalotien ja sekundaarimittausvalotien optisten matkanpituuksien summa, joten interferenssisignaali vastaa heijastustuksia näytteen eri syvyyksissä.

12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että glukoosikonsentraatio määritetään interferenssisignaalin riippuvuudesta optisten matkanpituuksien suhteesta.

13. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että näytevalotien optista matkanpituutta käytetään tulkintavaiheessa glukoosikonsentraation määrittämiseksi.

14. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että glukoosikonsentraation määrittämiseen käytetään vähintään kahta eri mittausvaloaallonpituutta ja interferenssisignaalin aallonpituusriippuvuutta käytetään glukoosikonsentraation määrittämiseen.

15. Patenttivaatimuksen 14 sekä patenttivaatimuksien 5 - 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valolähde emittoi leveäjuovaisen spektrin ja aallonpituusriippuvuus määritetään Fourier-muunnos-spektroskopia-menetelmällä.

16. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että biologisen näytteen lämpötila mitataan ja otetaan huomioon glukoosikonsentraation määrittämisessä.

17. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että biologinen näyte on biologista nestettä, erityisesti verta.

18. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että biologinen näyte on biologista kudosta.

5 19. Patenttivaatimuksen 18 mukainen menetelmä, t u n -
n e t t u siitä, että biologinen kudosa on ihmisen ihokudosta,
erityisesti sormenpäistä, ylävatsanpeitteestä, kynnenalus-
tasta, huulista, kielestä tai olkavarren sisäosasta tai se on
10 silmän kovakalvon tai silmän verkkokalvon kudosta.

20. Jonkin edellä olevista patenttivaatimuksista mukainen
menetelmä, t u n n e t t u siitä, että biologinen näyte
käsittää silmän kammioveden silmän etukammiossa.

15 21. Patenttivaatimuksen 9 tai 10 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että mittausvalo suunnataan silmän
sarveiskalvon läpi silmän etukammioon ja etukammion silmässä
tapahtuvan heijastuksen jälkeen sarveiskalvon läpi menevä valo
havaitaan siten, että näytevalotie kulkee tulopaikasta silmän
20 sarveiskalvolla etukammion sisällä aina heijastuspaikkaan
saakka ja sieltä poistumispaikkaan silmän sarveiskalvolla.

22. Patenttivaatimuksen 21 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että silmästä mitataan kahden heijastuksen in-
25 terferogrammit, jolloin ensimmäisen heijastuksen heijastus-
paikka on ennen silmän etukammion ja toisen heijastuksen
heijastuspaikka on silmän etukammion takana ja glukoosikon-
sentraatio määritetään molemmista interferogrammeista.

30 23. Patenttivaatimuksen 22 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että toisen heijastuksen heijastuspaikkana on
silmän etukammion silmämunaan suunnattu rajapinta.

35 24. Patenttivaatimuksen 22 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että toisen heijastuksen heijastuspaikkana on
silmän linssin (mykiön) linssin ulkopinta.

25. Jonkin patenttivaatimuksista 22 - 24 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ensimmäisen heijastuksen heijastuspaikkana on silmän sarveiskalvon kammioveden kostuttama rajapinta.

5

26. Glukoosin mittauslaite glukoosikonsentraation määrittämiseksi analyttisesti biologisesta näytteestä (14) käyttäen jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen mukaista menetelmää, joka käsittää

10 valolähteen (10) mittausvalon tuottamiseksi, valoa kohdistavan laitteen (11), jossa on valoaukko (12), jonka kautta mittausvalo suunnataan näytteen (14) rajapinnan (15, 35) läpi biologiseen näytteeseen (14), primaarimittausvalotien (22, 37), joka yhdistää valolähteen
15 (10) ja rajapinnan (15, 35), valoa vastaanottavan laitteen näytteen (14) kanssa rajapinnalla (15, 38) tapahtuvan vuorovaikutuksen jälkeen näytteestä poistuvalla mittausvalolla ja sekundaarimittausvalotien (24, 39), joka yhdistää rajapinnan
20 (15, 38), jossa mittausvalo poistuu näytteestä (14), valodetektoriin, referenssivalotien (26, 40), joka yhdistää valolähteen (10) ja valodetektorin (23), jolla on määritelty optinen matkanpituus ja
25 sekundaarimittausvalotiehen kiinnitetyn optisen kytkimen (7), jonka kautta sekundaarimittausvalotie (24, 39) ja referenssivalotie (26, 40) yhdistetään siten, että ne kohtaavat samassa kohdassa valodetektorin ja tuottavat interferenssisignaalin, t u n n e t t u siitä, että
30 valoa kohdistava laite (11) ja valoa vastaanottava laite, ovat muodostuneet siten, että mittausvalo kulkee näytteen sisällä näytevalotietä pitkin, joka on osa primaarimittausvalotiestä, näytevalotiestä ja sekundaarimittausvalotiestä koostuvaa kokonaisvalotietä, jolla on määritelty optinen matkanpituus.

35

27. Patenttivaatimuksen 26 mukainen glukoosin mittauslaite, t u n n e t t u siitä, että valo johdetaan vähintään yhdessä

osassa valoteitä (22, 24, 37, 39; 26, 40) monomode-valonjohtokuituihin (9).

5 28. Patenttivaatimuksen 26 tai 27 mukainen glukosin mittauslaite, t u n n e t t u siitä, että valolähde (10) on diodi-valolähde, erityisesti superluminesenssidiodi.

10 29. Jonkin patenttivaatimuksista 26 - 28 mukainen glukosin mittauslaite, t u n n e t t u siitä, että primaarimittausvalotie (22) ja sekundaarimittausvalotie (24) ovat osittain yhtäläisiä ja kulkevat samojen optisten rakenne-elementtien kautta.

15 30. Jonkin patenttivaatimuksista 26 - 29 mukainen glukosin mittauslaite, t u n n e t t u siitä, että referenssivalotiellä (26, 40) on sen optisen matkanpituuden säätämiseksi optisella akselilla siirrettävissä oleva heijastava optinen elementti (20, 44).

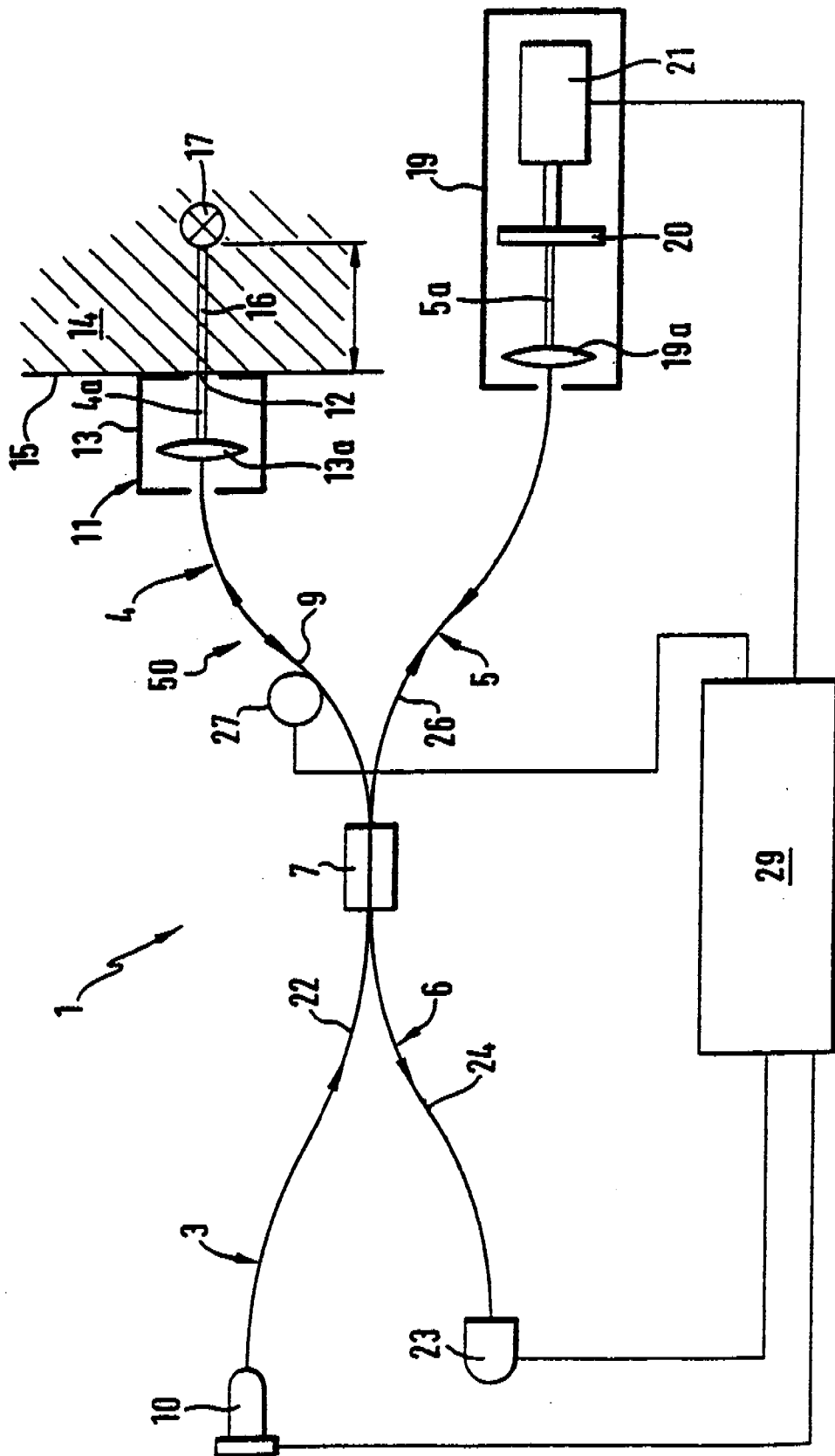


Fig. 1

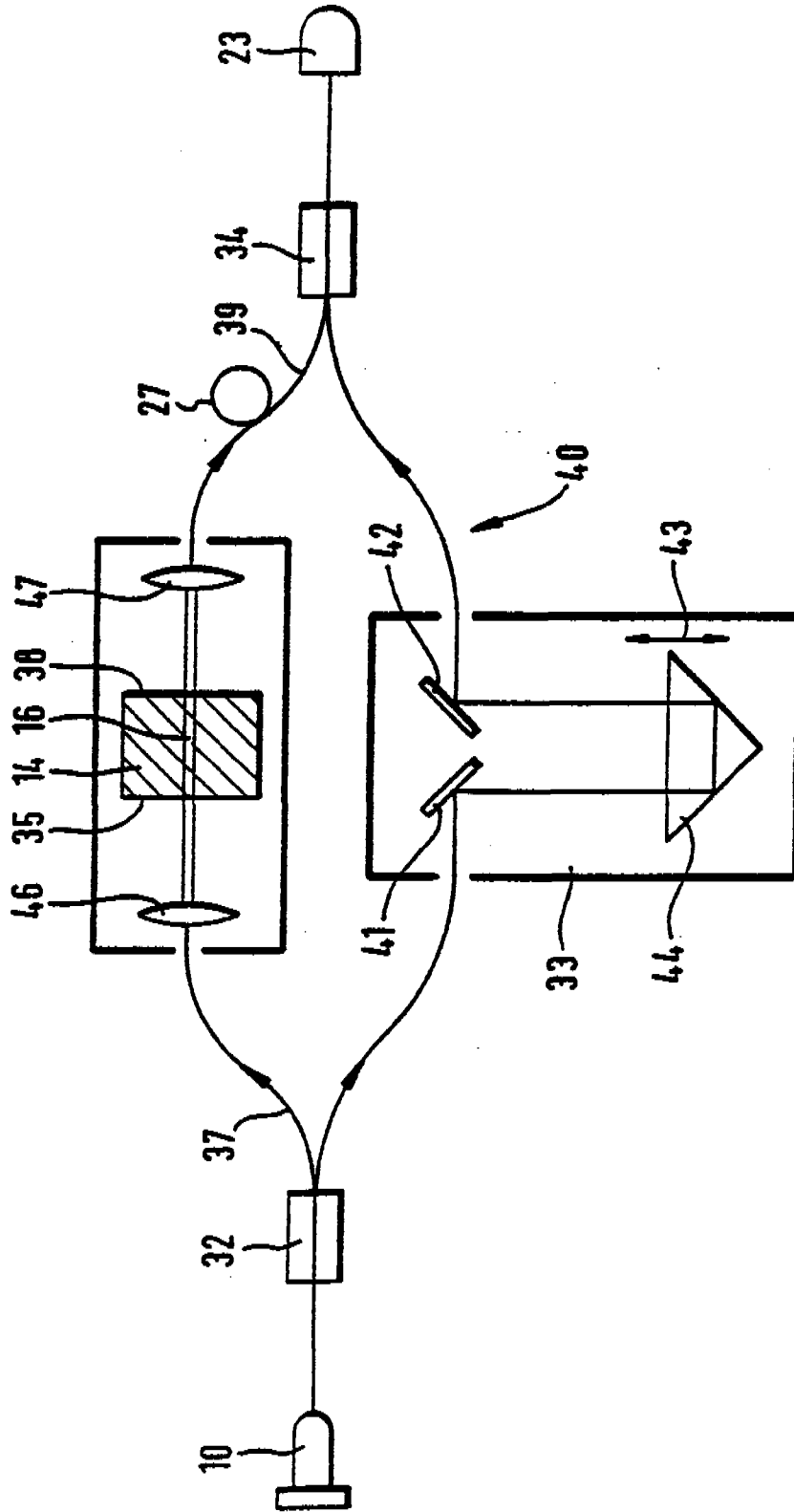


Fig. 3

Fig. 4

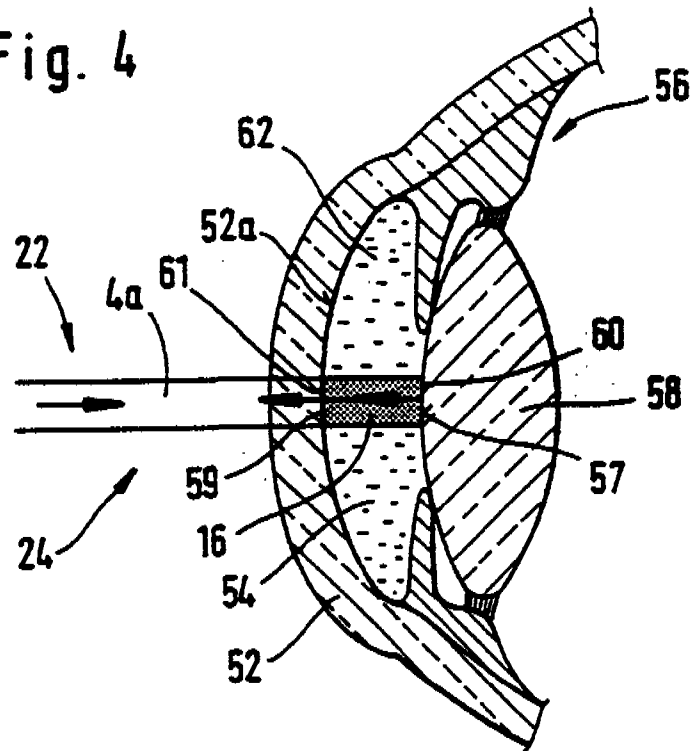
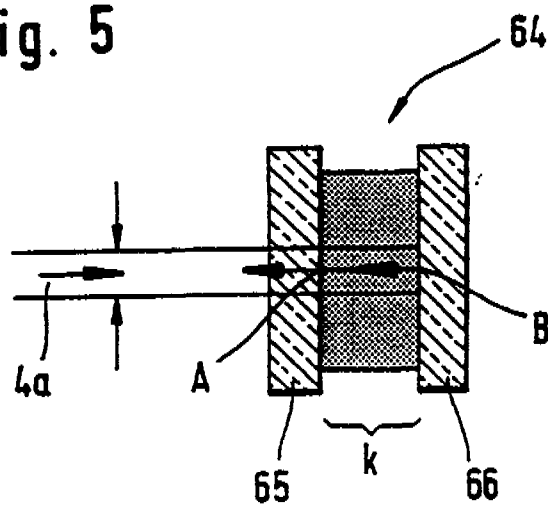


Fig. 5



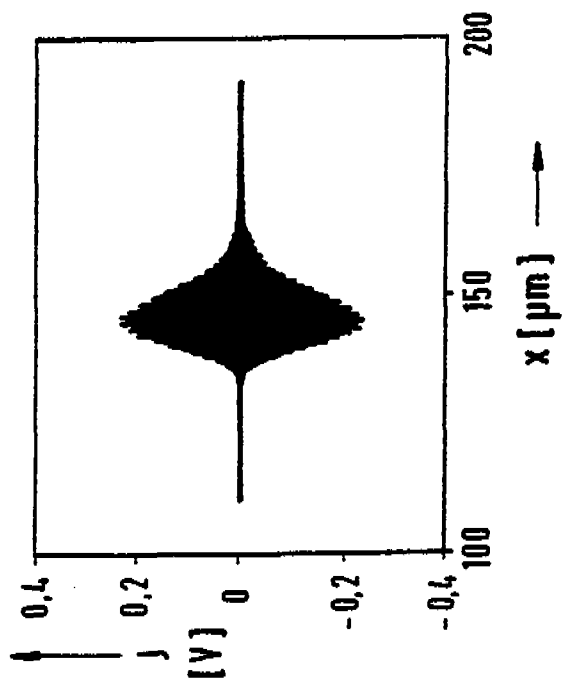


Fig. 6a

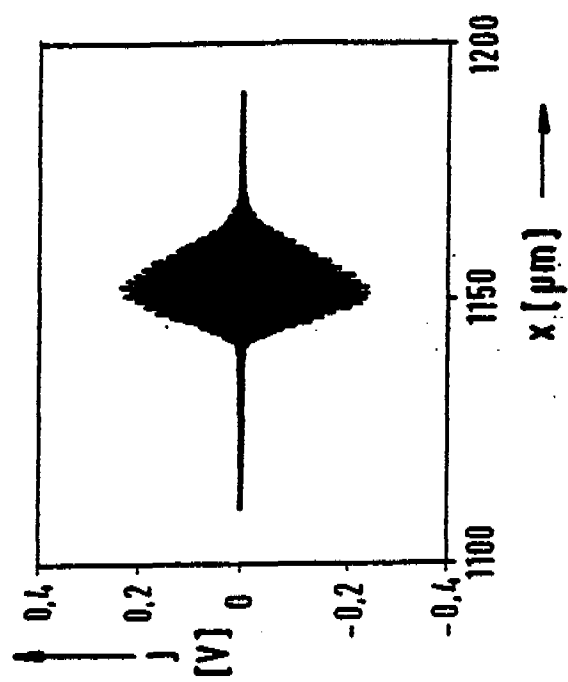


Fig. 6b

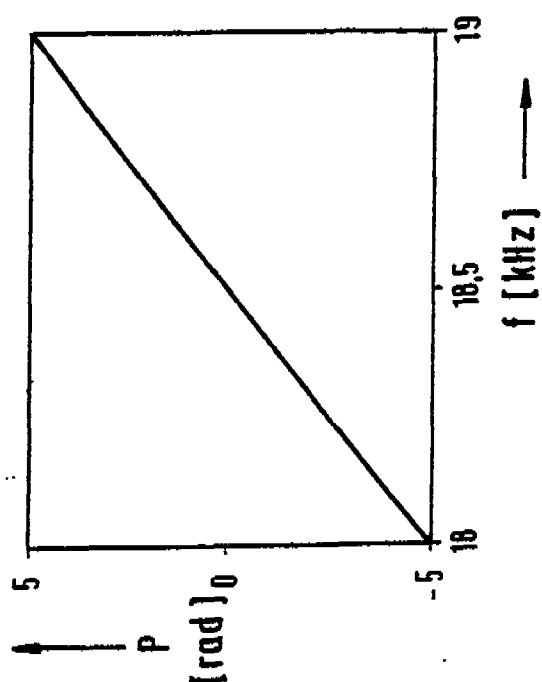


Fig. 7a

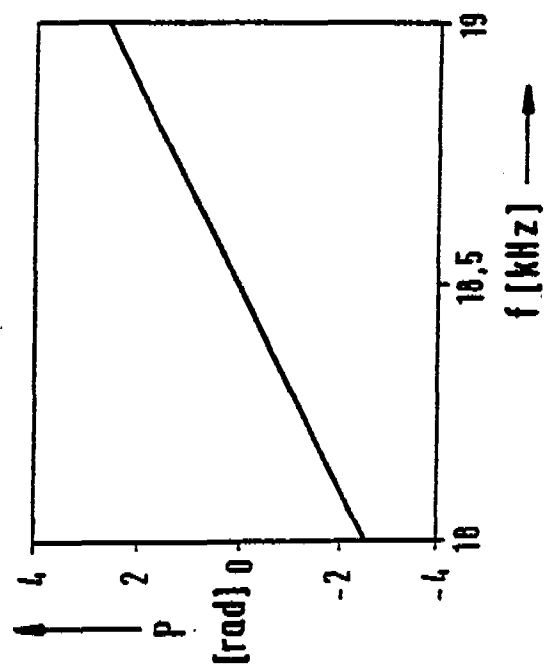


Fig. 7b

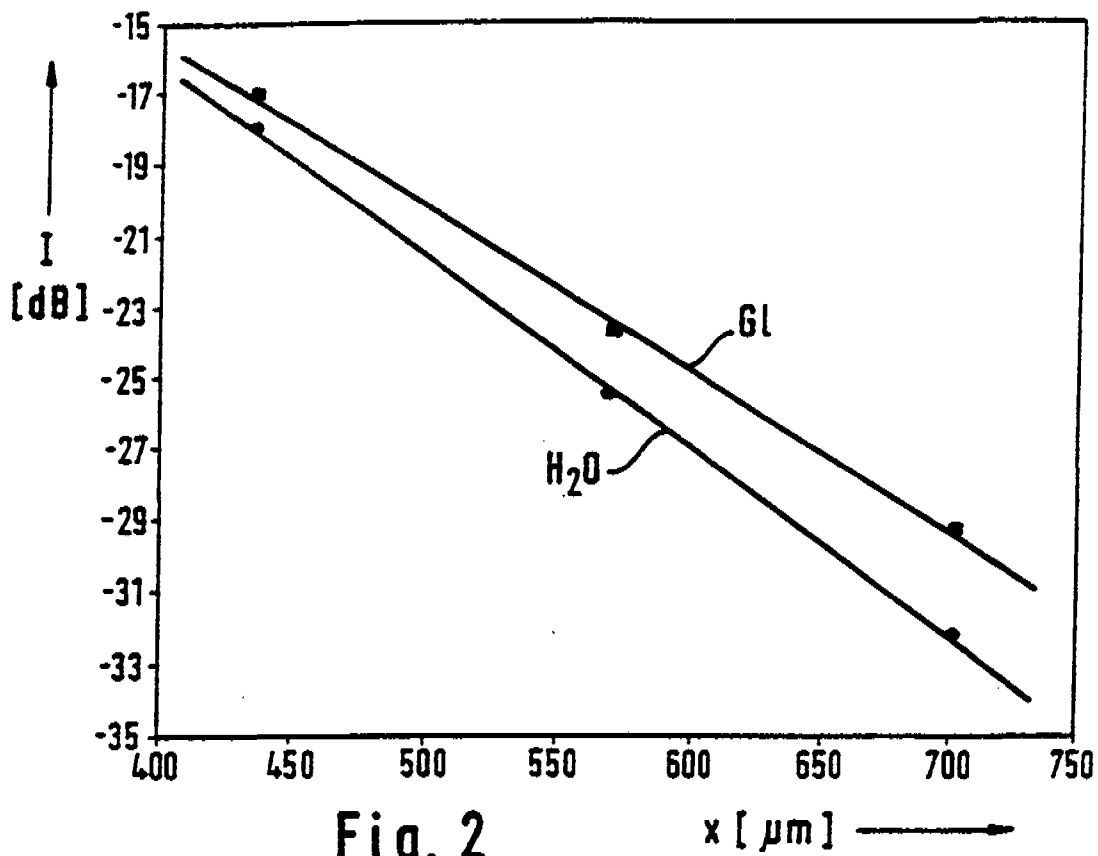


Fig. 2

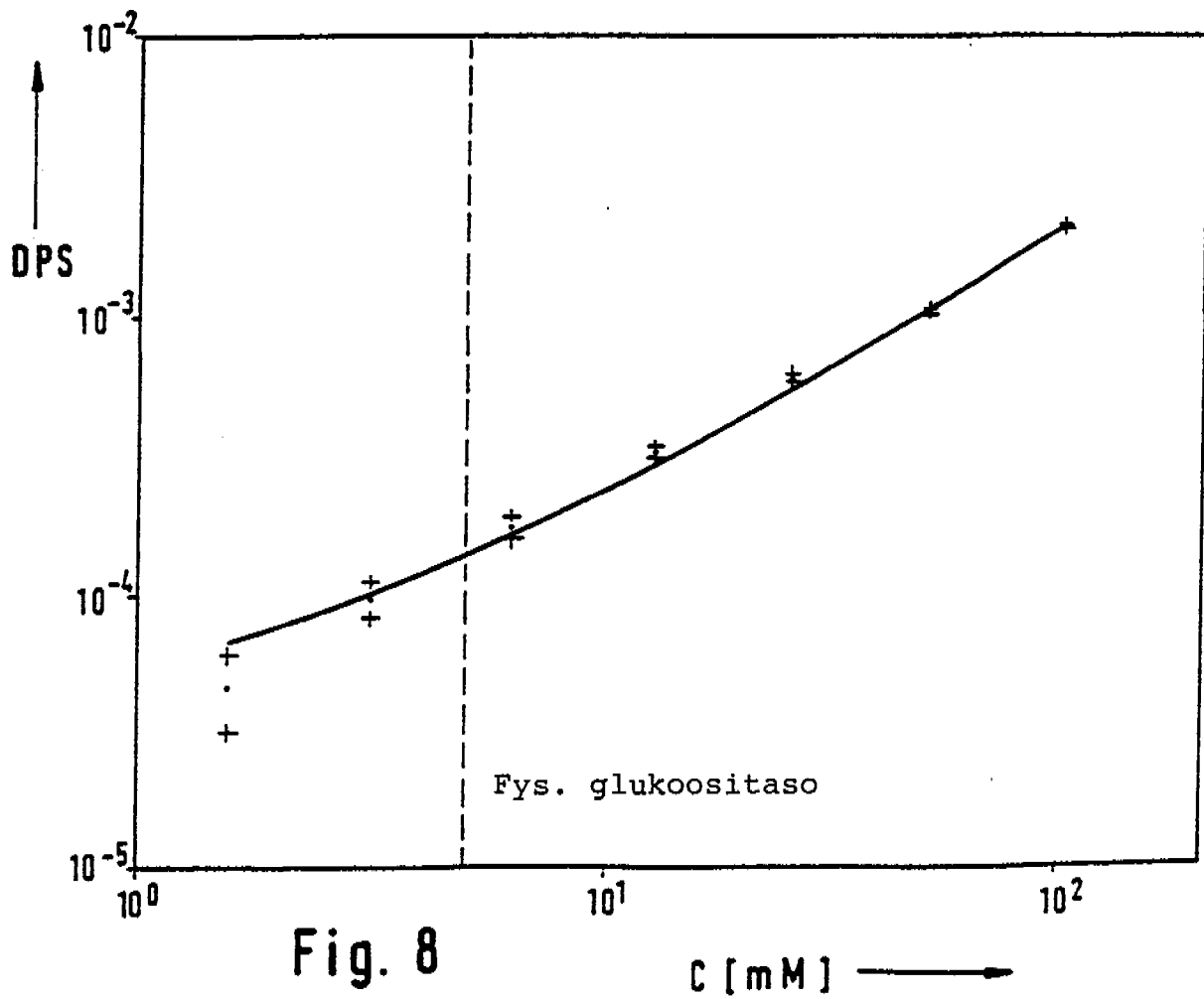


Fig. 8

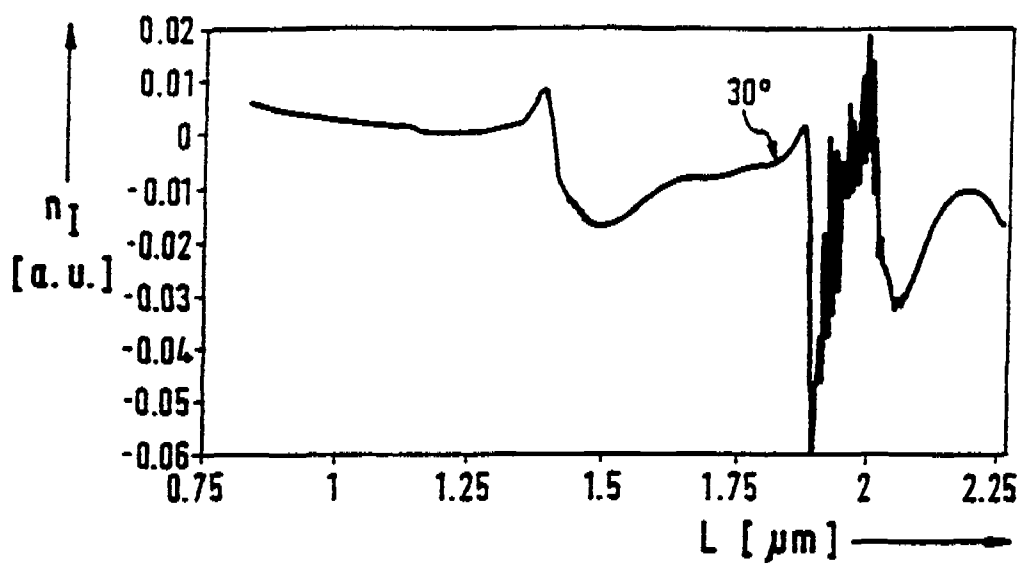


Fig. 9

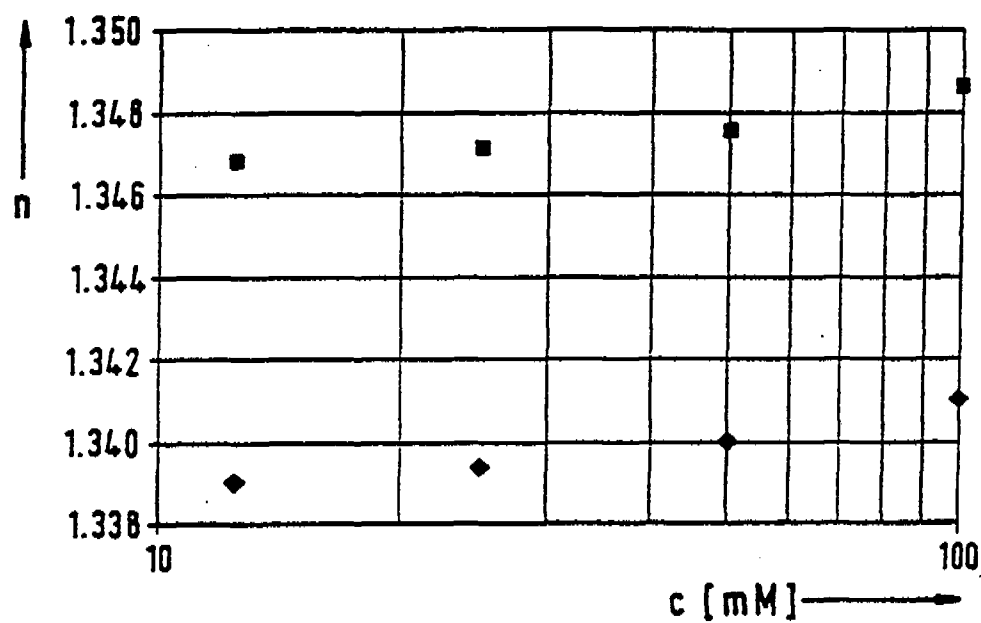


Fig. 10

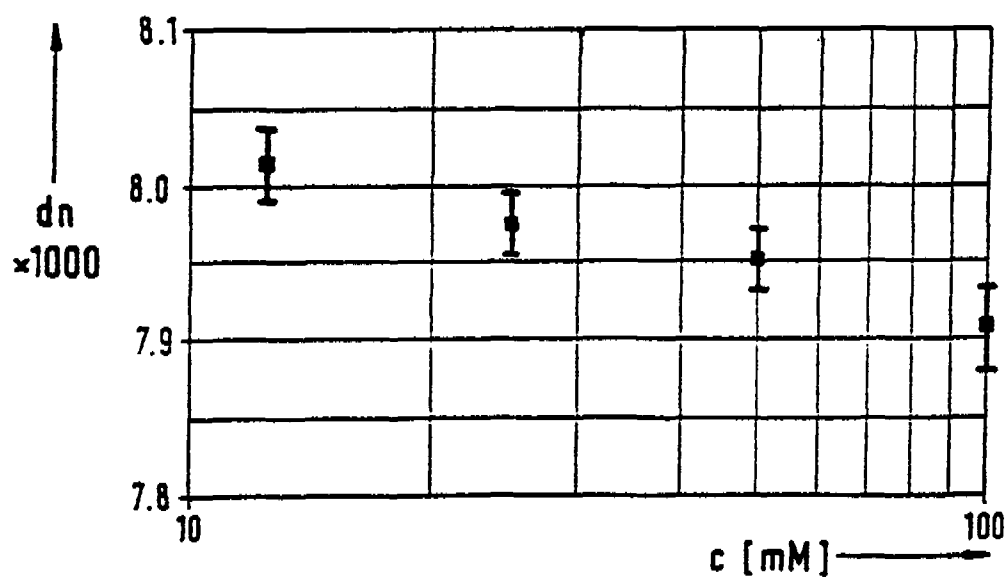


Fig. 11

Patentti- ja innovaatiolinja

TUTKIMUSRAPORTTI

PATENTTIHAKEMUS NRO	LUOKITUS
964263	A61B 5/00

TUTKITTU AINEISTO

Patenttijulkaisukokoelma (FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US), tutkitut luokat

Tiedonhaut ja muu aineisto

VITEJULKAISUT

Kategoria ^{*)}	Julkaisun tunnistetiedot	Koskee vaatimuksia
*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este		
Päiväys 19.4.2000	Tutkija Ann-Charlotte Kahlson-Sjöblom	