



(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:  
**14.09.2005 Patentblatt 2005/37**

(51) Int Cl.7: **B03C 1/28, B03C 1/30**

(21) Anmeldenummer: **05450044.2**

(22) Anmeldetag: **11.03.2005**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR**  
**HU IE IS IT LI LT LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR**  
 Benannte Erstreckungsstaaten:  
**AL BA HR LV MK YU**

(72) Erfinder:  
 • **Brandl, Martin**  
**3620 Spitz (AT)**  
 • **Hartmann, Jens**  
**3511 Furth (AT)**  
 • **Falkenhagen, Dieter**  
**3500 Krems (AT)**

(30) Priorität: **11.03.2004 AT 4312004**

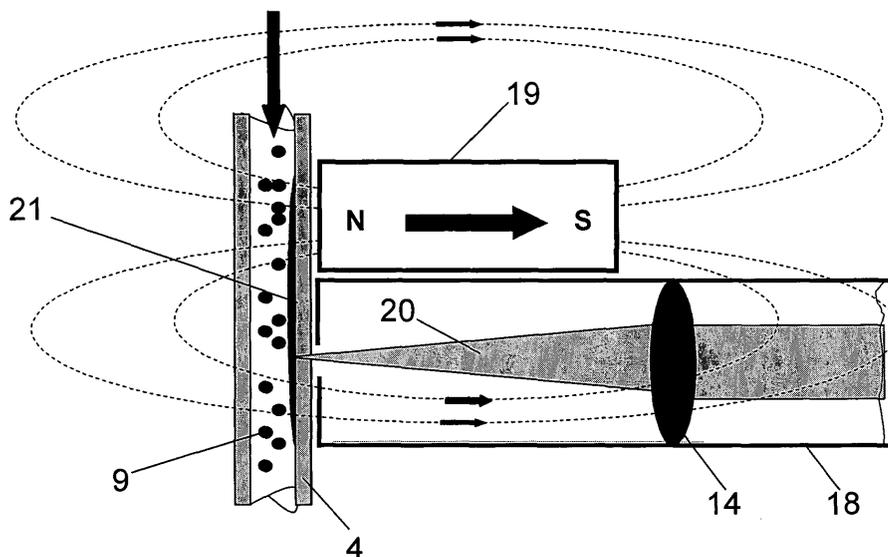
(71) Anmelder: **Christian Doppler Labor für**  
**spezifische**  
**Adsorptionstechnologien in der Medizin**  
**3500 Krems (AT)**

(74) Vertreter: **Patentanwaltskanzlei Matschnig**  
**Siebensterngasse 54**  
**1070 Wien (AT)**

(54) **Verfahren und Vorrichtung zur Detektion von markierten Mikropartikeln**

(57) Ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Detektion von markierten Mikropartikeln in einem eine Leitung (4) durchströmenden Medium, wobei Mikropartikel eingesetzt werden, welche einerseits magnetisch aktivierbare Markierungsanteile aufweisen und die andererseits zumindest eine weitere detektierbare Markierung besitzen, und die Mikropartikel mit Hilfe eines Magnetfeldes in dem strömenden Medium eingefangen und angesammelt und an der Sammelstelle als Ablagerung

(21) an der Innenwandung der Leitung auf Basis ihrer weiteren Markierung kontinuierlich detektiert werden. Eine Leitung (4) mit einer optisch durchlässigen Wandung dient zur Führung des Mediumstromes, zumindest ein Magnet (19; 19a, 19b) zur Erzeugung eines Magnetfeldes im Inneren der Leitung (4) und ein Fluoreszenzdetektor (18), dessen Strahlengang (20) durch die Wandung der Leitung (4) in deren Innenraum zu dem Bereich einer möglichen Ablagerung (21) von Mikropartikeln verläuft, zur Detektion.



**Fig. 3**

## Beschreibung

**[0001]** Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Detektion von markierten Mikropartikeln in einem eine Leitung durchströmenden Medium

**[0002]** Ebenso bezieht sich die Erfindung auf eine Vorrichtung zur Detektion von magnetisch und fluoreszenzmarkierten Mikropartikeln in einem strömenden Medium

**[0003]** Es gibt gewisse Blutreinigungsverfahren, wie Plasmapheresis und Hämo-perfusion/Plasmapheresis, bei welchen ein Entgiften durch Entfernung proteingebundener oder hydrophober Substanzen aus dem Blut erfolgt. Leider wird die Wirksamkeit dieser Verfahren häufig durch technische Probleme, niedrige Selektivität und geringe Leistungsfähigkeit begrenzt. Andererseits können Symptome von Patienten, die unter Leberversagen oder anderen hepatischen Funktionsstörungen leiden, mit der Beseitigung der Giftstoffe und anderer nicht erwünschter Substanzen, die mit herkömmlichen Dialysebehandlungen (Hämodialyse, Hämo-filtration) nicht beseitigt werden können, verbessert werden. In Fig. 1 ist ein für die genannten Zwecke geeignetes System gezeigt, das auch aus der EP 0 776 223 B1 bekannt geworden ist. Bei diesem System oder Gerät ist ein primärer extrakorporaler Kreis 3 an einen Patienten PAT angeschlossen, wobei eine arterielle Leitung 1 über eine Blutpumpe 2 zu einem Filter 5 führt, von welcher der Rückfluss über eine venöse Leitung 4 zu dem Patienten PAT erfolgt. Der zweite extrakorporale Kreis oder Sekundärkreis 7 führt von der Filtratseite des Filters 5 über eine Zentrifugal- oder Rollenpumpe 8 wieder zurück zur Filtratseite des Plasmafilters 5. In dem Primärkreis ist überdies eine Vorrichtung 6 zur Detektion bestimmter Eigenschaften des Filtratflusses enthalten. Die in Fig. 1 gezeigte Vorrichtung ist Stand der Technik, wobei sich die Erfindung mit der im weiteren noch näher erläuterten Vorrichtung 6 und einem zugehörigen Messverfahren beschäftigt.

**[0004]** Auf Fig. 1 zurückkommend, ist zu erläutern, dass durch die Relativbewegung der Flüssigkeiten von Primär- und Sekundärkreislauf ein Transmembrandruck im Filter 5 entsteht, der einen Flüssigkeitsaustausch zwischen den Kreisläufen zur Folge hat. Im Sekundärkreis 7 zirkulieren Mikropartikel 9, mit deren Hilfe Toxine spezifisch gebunden und so aus dem Blut entfernt werden. Derartige Mikroteilchen oder Mikrosphären weisen einen Durchmesser von weniger als 20 µm, insbesondere 1 bis 7 µm auf, was mit dem Durchmesser der Blutzellen vergleichbar ist. Besondere Eigenschaften der Mikrosphären sind eine große äußere Oberfläche und kurze Diffusionswege zu inneren Poren, falls solche vorhanden sind.

**[0005]** Um einen direkten Kontakt zwischen den Blutzellen und den Partikeln zu verhindern, wird das Vollblut mit dem Filter in einen Zellanteil und ein Filtrat, z. B. Plasma aufgeteilt, wobei das Filtrat im Sekundärkreis mit hoher Geschwindigkeit zirkuliert, um einen hohen

Filtrattransmembranfluss für eine leistungsfähige Behandlung aufrecht erhalten zu können. Die Fließgeschwindigkeit im Sekundärkreis 7, die typisch bei 0,5 bis 4 l/min liegt, ist auch deshalb so hoch, damit keine Bildung von Ablagerungen erfolgen kann.

**[0006]** Um die Patientensicherheit so hoch wie möglich zu halten, ist die Implementierung verschiedener Sicherheitssysteme in einem System, wie in Fig. 1 gezeigt, erforderlich. Die Mikropartikel-Suspension des Sekundärkreises 7 ist von dem primären Blutkreislauf nur durch eine dünnwandige Hohlfasermembran getrennt. Im Falle eines Membranbruchs oder auch nur einer Leckage käme es zu einer Infusion von Mikropartikeln in den Patientenblutkreislauf. Um dies zu verhindern ist die Vorrichtung 6 dazu eingerichtet, das Auftreten von Mikropartikeln in dem primären Kreislauf 3 festzustellen. Werden Mikropartikel in dem Blutkreislauf festgestellt, können sofortige Maßnahmen, wie Abschalten der Blutpumpe 2 etc., ergriffen bzw. automatisch ausgelöst werden.

**[0007]** Die bereits genannte EP 0 776 228 B1 geht auch auf das Problem der Detektion von Mikropartikeln im Blutkreislauf ein und schlägt Ultraschallsensoren ebenso vor, wie optische Sensoren, insbesondere in Zusammenhang mit einem Einfärben der Flüssigkeit im Sekundärkreislauf mit beispielsweise fluoreszierenden Stoffen. Andererseits wird auch darauf hingewiesen, dass man Mikropartikel, welche allfällig in dem Primärkreislauf gelangt sind, mit Hilfe eines Magnetfeldes absondern kann, falls die Partikel magnetisch aktivierbare Anteile enthalten. Ein solches Abtrennen magnetisch gekennzeichnete Teilchen, insbesondere Zellen, in einem Hochgradientenfeld ist beispielsweise auch in der EP 1 019 195 B1 beschrieben.

**[0008]** Eine bekannte Vorrichtung zur Messung optischer Eigenschaften in dem Primär(blut)kreis 3 ist in Fig. 2 gezeigt. Um die Mikropartikel von den sie umgebenden Blutbestandteilen unterscheiden zu können, werden sie mit einer optisch reflektierenden oder vorzugsweise mit einem fluoreszierenden Farbstoff markiert. Solche markierten Partikel werden dem Sekundärkreis 7, zusätzlich zu den in ihm enthaltenen (Adsorber) mikropartikeln zugesetzt. Typischerweise sind den Adsorberpartikeln 1 bis 10 % V/V markierte Partikel zugesetzt und die gesamte Partikelkonzentration beträgt etwa 20 % V/V. Die markierten Partikel zirkulieren dann gemeinsam mit den Adsorberpartikeln in dem Sekundärkreislauf 7. Im Falle einer Filter-Leckage treten die markierten Partikel gemeinsam mit den Adsorberpartikeln in den Primärkreislauf 3 über.

**[0009]** Mit Hilfe der Detektionsvorrichtung 6 kann ein Auftreten von fluoreszenzmarkierten Partikeln im Primärkreislauf 3 auch quantitativ erfasst werden und es kann aus der Menge der Indikatorpartikel auf die Menge der in den Adsorberpartikel in den Primärkreislauf übergetretenen Adsorberpartikel geschlossen werden. Es versteht sich, dass die Größenverteilung der markierten Partikel jener der Adsorberpartikel gleichen sollte, damit

dieser Rückschluss sicher genug ist.

**[0010]** Fig. 2 zeigt auch das optische Prinzip einer bekannten Detektionsvorrichtung 6 für fluoreszenzmarkierte Mikropartikel. Eine Lichtquelle 10, z. B. eine LED oder ein Laser, liefert das Anregungslicht, bei dem gezeigten Beispiel im Bereich von 570 bis 610 nm. Der Strahl der Lichtquelle 10 wird mittels einer Linse 11 gebündelt und/oder korrigiert und sodann wird mit Hilfe optischer Filter 12 aus dem breitbandigen Licht die dominante Anregungswellenlänge des fluoreszierenden Farbstoffes, hier 590 nm, ausgefiltert.

**[0011]** Ein halbdurchlässiger 45°-Strahlteiler 13 lenkt das Anregungslicht zu einer Fokussierungslinse 14, um den Strahl auf das zu beobachtende Flüssigkeitsvolumen zu fokussieren, das in der venösen Leitung 4 des Primärkreises 3 liegt. Diese Leitung 4 ist zumindest teilweise und in bekannter Weise z. B. als transparenter Schlauch ausgebildet, dessen Material so gewählt wird, dass es im Bereich der Anregungs- und Fluoreszenzwellenlänge zu keinen optischen Beeinträchtigungen für den Detektor hinsichtlich Absorption oder Eigenfluoreszenz führt. Natürlich kann auch in einer besonderen, in dem primären Kreis 3 gelegenen Messkammer statt in einem Schlauchabschnitt gemessen werden.

**[0012]** Von markierten Mikropartikeln emittiertes Fluoreszenzlicht wird mit Hilfe der Linse 14 gebündelt und gelangt durch den Strahlteiler 13 in den Empfangspfad. Aus einem emittierten Spektrum von 610 bis 635 nm bzw. allfälliger parasitärer Strahlung aus dem Anregungspfad und Umgebungslicht wird mittels optischer Filter 15 Licht einer bestimmten Wellenlänge, im vorliegenden Fall 620 nm ausgefiltert und über eine Fokussierungslinse 16 zu einem Photodetektor 17 geführt, bei einer praxisgerechten Ausführung z. B. auf die aktive Fläche eines Photomultiplers. Das elektrische Ausgangssignal des Photodetektors 17 ist proportional der Lichtintensität und auch aus der Signalamplitude kann auf die Dichte von fluoreszenzmarkierten Partikeln in dem betrachteten Flüssigkeitsvolumen geschlossen werden. Der gezeigte Fluoreszenzdetektor ist hier und in weiteren Figuren mit 18 bezeichnet.

**[0013]** Ein Problem, das für den Stand der Technik spezifisch ist, ist die relativ geringe Empfindlichkeit der Detektionsverfahren. So ist für die Fluoreszenzlicht-Detektion das sich ergebende Signal/Rausch-Verhältnis wegen der hohen optischen Absorption von Blut bei der Extinktions- und Emissionswellenlänge üblicher fluoreszierender Farbstoffe ein limitierender Faktor, denn es kann auf Grund der hohen optischen Dichte des Blutes immer nur ein kleines Flüssigkeitsvolumen von dem Detektor erfasst werden. Der Fokus des Detektor-Strahlengangs ist nur auf eine dünne Schicht innerhalb eines das Blut transportierenden Schlauches od. dgl. gerichtet und es werden dementsprechend wenige von allfällig vorhandenen Partikel erfasst. Die Intensität des gemessenen Fluoreszenzlichtes ist jedoch der Partikelzahl im betrachteten Volumen proportional.

**[0014]** Es ist an dieser Stelle anzumerken, dass die

Verwendung auch magnetisch markierter Partikel bei Analysenverfahren bekannt ist. So zeigt die WO 92/14138 ein Untersuchungsverfahren samt einer zugehörigen Vorrichtung, bei welchem kleinvolumige Proben vorbereitet werden, welche einen Komplex mit daran gebundenen magnetischen Partikeln enthalten. Diese Probe wird sodann in eine kleine Probenkammer eingebracht und dort werden die Komplexe mit Hilfe eines Magnetfeldes auf eine innerhalb der Kammer angeordnete Elektrode gezogen, um daraufhin, nach Anlegen einer Spannung, eine Elektrochemolumineszenz anzuregen, die dann detektiert wird. Dieses Verfahren setzt Elektroden innerhalb einer speziellen Messkammer voraus und arbeitet diskontinuierlich.

**[0015]** Die JP 9089774 A beschreibt ein Fluoreszenzmikroskop mit einem ringförmigen Permanentmagneten an der Objektivlinse zur Konzentration magnetischer und fluoreszierender Partikel vor dem Objektiv, wobei auch hier die Messung diskontinuierlich und in einer Messkammer mit kleinem, definiertem Volumen erfolgt.

**[0016]** Die JP 5264547 offenbart ein immuntechnologisches Verfahren, bei welchem für eine Analyse eine Probe enzymatisch und magnetisch markiert wird, Durch ein Magnetfeld wird die Probensubstanz auf ein Substrat gezogen, mit welchem sie reagiert, um danach analysiert zu werden. Erst die Reaktion mit dem Substrat ermöglicht die Detektion durch eine Absorptions- oder Fluoreszenzanalyse.

**[0017]** Es ist eine Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren bzw. eine Vorrichtung zu schaffen, mit deren Hilfe markierte, insbesondere fluoreszenzmarkierte Mikropartikel in einem strömenden Medium wie z. B. in einem Blutkreislauf, bereits in geringer Konzentration sicher detektiert werden können.

**[0018]** Diese Aufgabe wird mit einem Verfahren der eingangs genannten Art gelöst, bei welchem erfindungsgemäß Mikropartikel eingesetzt werden, welche einerseits magnetisch aktivierbare Markierungsanteile aufweisen und die andererseits zumindest eine weitere detektierbare Markierung besitzen, und die Mikropartikel mit Hilfe eines Magnetfeldes in dem strömenden Medium eingefangen und angesammelt und an der Sammelstelle als Ablagerung an der Innenwandung der Leitung auf Basis ihrer weiteren Markierung kontinuierlich detektiert werden.

**[0019]** Ebenso wird die Aufgabe mit einer Vorrichtung der oben angegebenen Art gelöst, welche erfindungsgemäß gekennzeichnet ist durch eine Leitung mit einer optisch durchlässigen Wandung zur Führung des Mediumstromes, zumindest einen Magneten, der zur Erzeugung eines Magnetfeldes im Inneren der Leitung an deren Außenseite angeordnet ist, wobei das Magnetfeld bei Vorhandensein der markierten Mikropartikel zu einer Ablagerung der Partikel an der Innenwandung der Leitung führt, und einen Fluoreszenzdetektor, dessen Strahlengang durch die Wandung der Leitung in deren Innenraum zu dem Bereich einer möglichen Ablagerung

von Mikropartikeln verläuft.

**[0020]** Bei einer besonders praxistauglichen Variante ist vorgesehen, dass die weitere Markierung eine optische Fluoreszenzmarkierung ist und die Mikropartikel an der Sammelstelle optisch detektiert werden.

**[0021]** Die Erfindung eignet sich besonders für eine Blutreinigungsanlage, deren extrakorporaler Blutfluss das strömende Medium bildet, um die Sicherheit für den Patienten zu erhöhen.

**[0022]** Zweckmäßig ist es weiters, wenn das Medium in einer Leitung mit optisch durchlässiger Wandung strömt und das Magnetfeld mit Hilfe zumindest eines außerhalb der Leitung gelegenen Magneten erzeugt wird. Dabei kann ein üblicher, in der Infusionstechnik verwendeter Schlauch als Leitung dienen und es treten keine Sterilisationsprobleme auf. Dabei eignet sich besonders eine Ausführung, bei welcher im Bereich des zumindest einen Magneten die Ablagerung von eingefangenen und markierten Mikropartikeln an der Innenwand der Leitung mit Hilfe des Strahlenganges eines Fluoreszenzdetektors detektiert wird.

**[0023]** Zur Vereinfachung der Vorrichtung ist es zweckdienlich, wenn der zumindest eine Magnet ein Permanentmagnet ist.

**[0024]** Ein gut erfassbarer Einfang an Mikropartikeln ergibt sich, wenn ein Magnet nahe der Leitung, unmittelbar stromauf des Eintrittes des Strahlenganges in die Leitung angeordnet ist.

**[0025]** Es führt zu einer kompakten Konstruktion, wenn ein Magnet nahe der Leitung gelegen ist, wobei die Nord-Süd-Achse des Magneten unter einem Winkel zu dem Strahlengang des Fluoreszenzdetektors, jedoch im wesentlichen in einer gemeinsamen Normalenebene zur Leitung liegt. Dabei liegt der Winkel zwischen Nord-Süd-Richtung des Magneten und Strahlengang des Detektors zweckmäßigerweise zwischen 70 ° und 100 °.

**[0026]** Wenn zwei Magnete vorgesehen sind, welche in einer Normalebene zur Leitung angeordnet sind, wobei die Nord-Süd-Achsen der Magneten unter 60 ° bis 120 °, vorzugsweise 90 ° gegeneinander geneigt sind und der Strahlengang des Detektors in Richtung der Leitung gesehen im wesentlichen durch die Winkelsymmetrale der Nord-Süd-Achsen verläuft, erhält man einen besonders wirksamen Einfang der Mikroteilchen, wobei es zur bestmöglichen optischen Erfassung der Ablagerung ratsam sein kann, wenn der Strahlengang des Fluoreszenzdetektors geringfügig stromab der Achsen der Magneten durch die Wandung der Leitung verläuft.

**[0027]** Die Erfindung samt weiteren Merkmalen ist im folgenden an Hand beispielsweise Ausführungsformen näher erläutert, die in der Zeichnung veranschaulicht sind. In dieser zeigen

Fig. 1 eine Vorrichtung nach dem Stand der Technik zur Beseitigung von Giftstoffen aus Blut,

Fig. 2 eine bekannte Vorrichtung zur Messung opti-

scher Eigenschaften in dem Blutkreislauf der Vorrichtung nach Fig. 1,

Fig. 3 eine schematische Detailansicht einer ersten Ausführungsform der Erfindung, normal zur Flussrichtung gesehen,

Fig. 4 in einer schematischen Detailansicht in Flussrichtung gesehen eine Variante der Erfindung,

Fig. 5 in einer Darstellung wie Fig. 3 eine weitere Ausführungsform der Erfindung,

Fig. 6 die Ausführung nach Fig. 5 in Flussrichtung gesehen und

Fig. 7 in einem Diagramm gemessene Ausgangssignale des Detektors einer Vorrichtung nach der Erfindung.

**[0028]** Um die Empfindlichkeit bekannter Vorrichtungen und Systeme zur Detektion markierter Mikropartikel zu erhöhen, sieht die Erfindung vor, neben einer ersten Markierung - in den gezeigten Ausführungsformen eine Fluoreszenzmarkierung - eine weitere Markierung, nämlich eine magnetische Markierung, zu verwenden. Hier in Frage kommende Mikropartikel besitzen z. B. eine mikrosphärische Zellulosematrix mit einem Eisen(II, III)-oxid-Kern. Zur Fluoreszenzmarkierung kann der Farbstoff Kresylviolett (9-Diamino-benzophenoxazonium-Perchlorat) mit 1,4-Glycidylxypropyltrimethoxysilan auf der Partikeloberfläche festgelegt werden, wobei ein bevorzugter Durchmesser der solcherart markierten Partikel zwischen 5 und 15 µm liegt. Natürlich könnte die zu detektierende Markierung auch anderer Art, z. B. eine radioaktive, sein, doch hat sich die Fluoreszenzmarkierung in der Praxis als besonders geeignet, da günstig, unbedenklich und mit vertretbarem Aufwand detektierbar, herausgestellt.

**[0029]** Wie aus Fig. 3 hervorgeht, sieht die Erfindung weiters vor, die zu detektierenden Mikropartikel mit Hilfe eines Magnetfeldes einzufangen und anzusammeln, um sie an der Sammelstelle an Hand ihrer Fluoreszenzmarkierung zu detektieren. Bei der gezeigten Ausführungsform ist im Nahbereich eines Schlauchabschnittes der venösen Leitung 4 ein Permanentmagnet 19 angeordnet. In Flussrichtung stromab des Magneten 19 befindet sich die Spitze des Fluoreszenzdetektors 18, der in Fig. 2 gezeigt ist und von welchem die Linse 14 und der durch diese gebündelte Strahlengang 20 ersichtlich sind.

**[0030]** Wenn das Magnetfeld des Magneten 19 stark genug ist - der Magnet 19 bzw. die Magnete diese und der weiteren Ausführungsformen können natürlich auch als Elektromagnete ausgebildet sein - bleiben sämtliche magnetisch markierte Partikel im Bereich des Magneten 19 an der inneren Schlauchwandung haften. Diese Ablagerung 21 markierter Partikel wird von der Strömung

zum Teil stromab des Magneten 19 mitgezogen. Bei der praktischen Realisierung achtet man darauf, dass sich ein signifikanter Bereich der Ablagerung 21 im Fokus des Strahlengangs 20 befindet.

**[0031]** Der Fluoreszenzdetektor 18 misst die Intensität der Fluoreszenzstrahlung, welche von den mit der Anregungswellenlänge bestrahlten Mikropartikeln ausgeht. Da sich die markierten Partikel an der Sammelstelle bzw. Magnetfalle ansammeln und nicht - wie nach dem Stand der Technik - im Vorbeiströmen gemessen werden müssen, kann praktisch die gesamte Menge der in den Blutkreislauf 3 eingetretenen markierten Partikel bestimmt werden. Messungen haben gezeigt, dass die Intensität des Fluoreszenzlichtes im wesentlichen proportional zur gesamten Menge der in den Primärkreislauf 3 übergegangenen Partikel ist.

**[0032]** Bei der Variante nach Fig. 4 sind zwei Magnete 19a, 19b radial ausgerichtet und um einen Winkel von z. B.  $60^\circ$  bis  $120^\circ$ , vorzugsweise  $90^\circ$  gegeneinander versetzt bezüglich der (venösen) Leitung 4 angeordnet. Dabei läuft der Strahlengang 20 des Detektors 18 zweckmäßigerweise durch die Winkelsymmetrale der Magnete 19a, 19b. Da sich die markierten Partikel zwischen den beiden Magneten 19a, 19b ablagern, liegen die Ablagerungen in einem freien optischen Pfad für den Detektor 18 und die Partikel können direkt an der Sammelstelle mit dem Anregungslicht bestrahlt werden. Zweckmäßigerweise kann der Strahlengang 20 des Fluoreszenzdetektors 18 geringfügig stromab der Achsen der Magnete 19a, 19b durch die Wandung der Leitung 4 verlaufen, um das "Verschmieren" der Ablagerung 19 (siehe Fig. 2) auf Grund der Strömung zu berichtigen.

**[0033]** Eine dritte Variante bezüglich der Relativlage von Strahlengang des Detektors 19, Magnet 19 und Leitung 4 ist den Fig. 5 und 6 zu entnehmen. Hier liegt die Nord-Süd-Magnetachse eines Permanentmagneten 19 in einem Winkel von  $60^\circ$  bis  $120^\circ$ , vorzugsweise normal bezüglich des Strahlengangs 20 des Detektors 18 und auch bezüglich der Achse der Leitung 4. Magnetisch markierte Mikropartikel sammeln sich an der dem Magneten 19 zugekehrten Innenseite der Leitung 4 an und werden von dem Detektorstrahl seitlich beleuchtet. Die seitliche Position des Detektorstrahls wird im Betrieb so justiert, dass sich ein maximales Ausgangssignal ergibt.

**[0034]** Die in Fig. 7 dargestellten Messergebnisse illustrieren deutlich die mit der Erfindung erzielbare Verbesserung der Empfindlichkeit und Anhebung des Signal-Rausch-Verhältnisses. Die Linie 22 zeigt das Ausgangssignal des Photodetektors 17 bei Abwesenheit fluoreszenzmarkierter Partikel, somit das Grundrauschen. Auf der Ordinate ist die Höhe des Ausgangssignals aufgetragen, auf der Abszisse das Partikelvolumen, genauer gesagt das Partikelvolumen, welches bereits an der Messstelle vorbeigeströmt ist.

**[0035]** Die Linie 23 betrifft eine Messung mit fluoreszenzmarkierten und auch ferromagnetisch markierten Partikeln in einer Anordnung wie z. B. nach Fig. 3 mit

entferntem Magnet 19. Es ergibt sich ein zwar feststellbares, jedoch nur wenig über dem Grundrauschen liegendes Ausgangssignal, das unabhängig von dem insgesamt an der Messstelle vorbeigeströmten Partikelvolumen ist. Eine gleiche Linie ergibt sich, wenn die Partikel nur fluoreszenzmarkiert sind, gleich ob ein Magnet 19 vorhanden ist oder nicht.

**[0036]** Die Kurve 24 schließlich zeigt ein Messergebnis bei Anwendung der Erfindung, wobei deutlich die Steigerung des Signal/Rausch-Verhältnisses zu erkennen ist, die auf eine durchschnittliche Verdoppelung des Ausgangssignals zurückzuführen ist. An dem Messpunkt ist in Ordinate-Richtung je die Standardabweichung der Ausgangssignale für fünf Messungen eingezeichnet. Die markierten Partikel werden vom Magneten eingefangen und festgehalten. Die Anzahl der festgehaltenen Partikel steigt mit der Gesamtmenge der durch die Magnetfalle getretenen Partikel an und bewirkt eine Steigerung der Fluoreszenzintensität.

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Detektion von markierten Mikropartikeln in einem eine Leitung durchströmenden Medium, **dadurch gekennzeichnet, dass** Mikropartikel eingesetzt werden, welche einerseits magnetisch aktivierbare Markierungsanteile aufweisen und die andererseits zumindest eine weitere detektierbare Markierung besitzen, und die Mikropartikel mit Hilfe eines Magnetfeldes in dem strömenden Medium eingefangen und angesammelt und an der Sammelstelle als Ablagerung (21) an der Innenwandung der Leitung auf Basis ihrer weiteren Markierung kontinuierlich detektiert werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die weitere Markierung eine optische Fluoreszenzmarkierung ist und die Mikropartikel an der Sammelstelle optisch detektiert werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** das strömende Medium ein extrakorporaler Blutfluss einer Blutreinigungsanlage ist.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Medium in einer Leitung (4) mit optisch durchlässiger Wandung strömt und das Magnetfeld mit Hilfe zumindest eines außerhalb der Leitung (4) gelegenen Magneten (19; 19a, 19b) erzeugt wird.
5. Verfahren nach Anspruch 2 und 4, **dadurch gekennzeichnet, dass** im Bereich des zumindest einen Magneten (19; 19a, 19b) die Ablagerung (21) von eingefangenen und markierten Mikropartikeln

an der Innenwand der Leitung (4) mit Hilfe des Strahlenganges (20) eines Fluoreszenzdetektors (18) detektiert wird.

6. Vorrichtung zur Detektion von magnetisch und fluoreszenzmarkierten Mikropartikeln in einem strömenden Medium 5  
**gekennzeichnet durch**  
 eine Leitung (4) mit einer optisch durchlässigen Wandung zur Führung des Mediumstromes, 10  
 zumindest einen Magneten (19; 19a, 19b), der zur Erzeugung eines Magnetfeldes im Inneren der Leitung (4) an deren Außenseite angeordnet ist, wobei das Magnetfeld bei Vorhandensein der markierten Mikropartikel zu einer Ablagerung (21) der Partikel an der Innenwandung der Leitung führt, und 15  
 einen Fluoreszenzdetektor (18), dessen Strahlengang (20) **durch** die Wandung der Leitung (4) in deren Innenraum zu dem Bereich einer möglichen Ablagerung (21) von Mikropartikeln verläuft. 20
7. Vorrichtung nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** der zumindest eine Magnet (19; 19a, 19b) ein Permanentmagnet ist. 25
8. Vorrichtung nach Anspruch 6 oder 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Magnet (19) nahe der Leitung (4), unmittelbar stromauf des Eintrittes des Strahlenganges (20) in die Leitung angeordnet ist. 30
9. Vorrichtung nach Anspruch 6 oder 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Magnet (19) nahe der Leitung (4) gelegen ist, wobei die Nord-Süd-Achse des Magneten (19) unter einem Winkel zu dem Strahlengang (20) des Fluoreszenzdetektors (18), jedoch im wesentlichen in einer gemeinsamen Normalebene zur Leitung (4) liegt. 35
10. Vorrichtung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Winkel zwischen Nord-Süd-Richtung des Magneten (19) und Strahlengang (20) des Detektors (18) zwischen 60 ° und 120 ° liegt. 40
11. Vorrichtung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zwei Magnete (19a, 19b) in einer Normalebene zur Leitung (4) angeordnet sind, wobei die Nord-Süd-Achsen der Magneten (19a, 19b) unter 60 ° bis 120 °, vorzugsweise 90 °, gegeneinander geneigt sind und der Strahlengang (20) des Detektors (18) in Richtung der Leitung gesehen im wesentlichen durch die Winkelsymmetrale der Nord-Süd-Achsen verläuft. 45  
50
12. Vorrichtung nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Strahlengang (20) des Fluoreszenzdetektors (18) geringfügig stromab der Achsen der Magneten (19a, 19b) durch die Wandung der Leitung (4) verläuft. 55

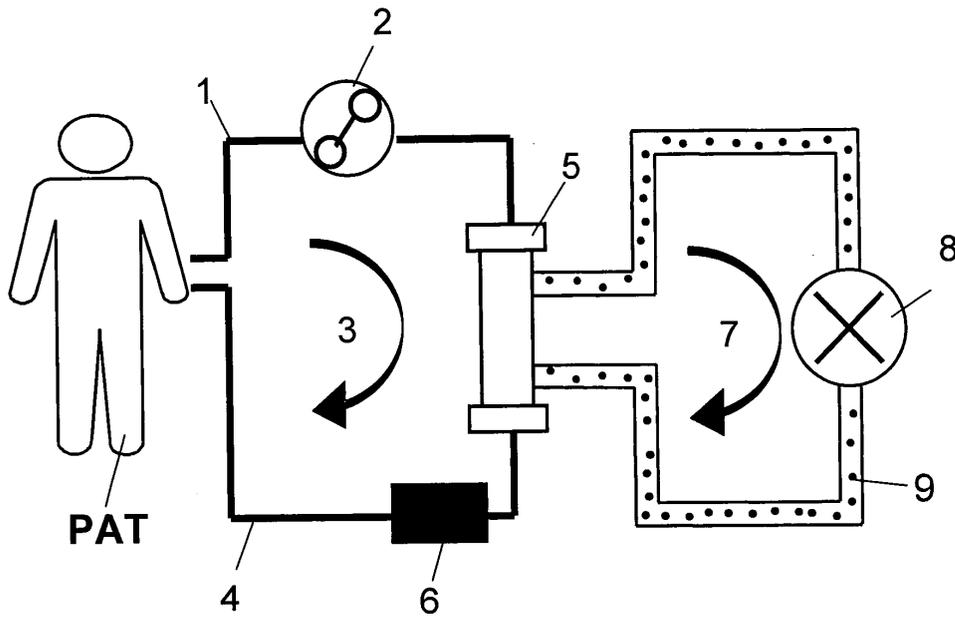


Fig. 1

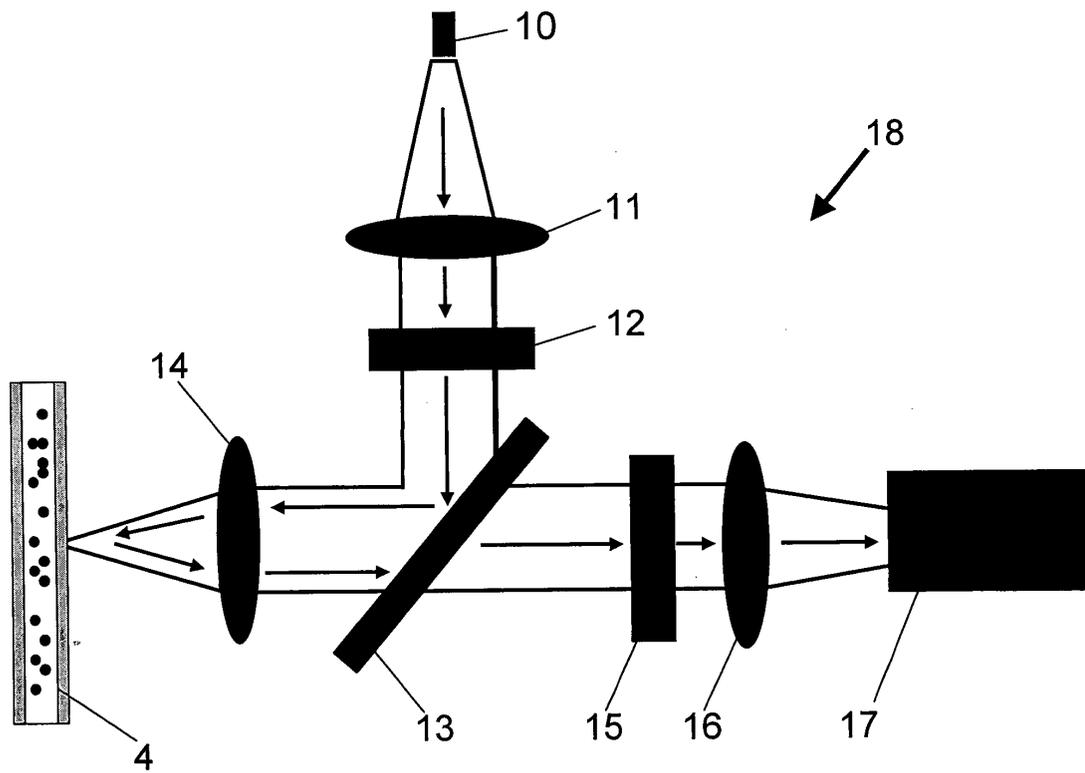


Fig. 2

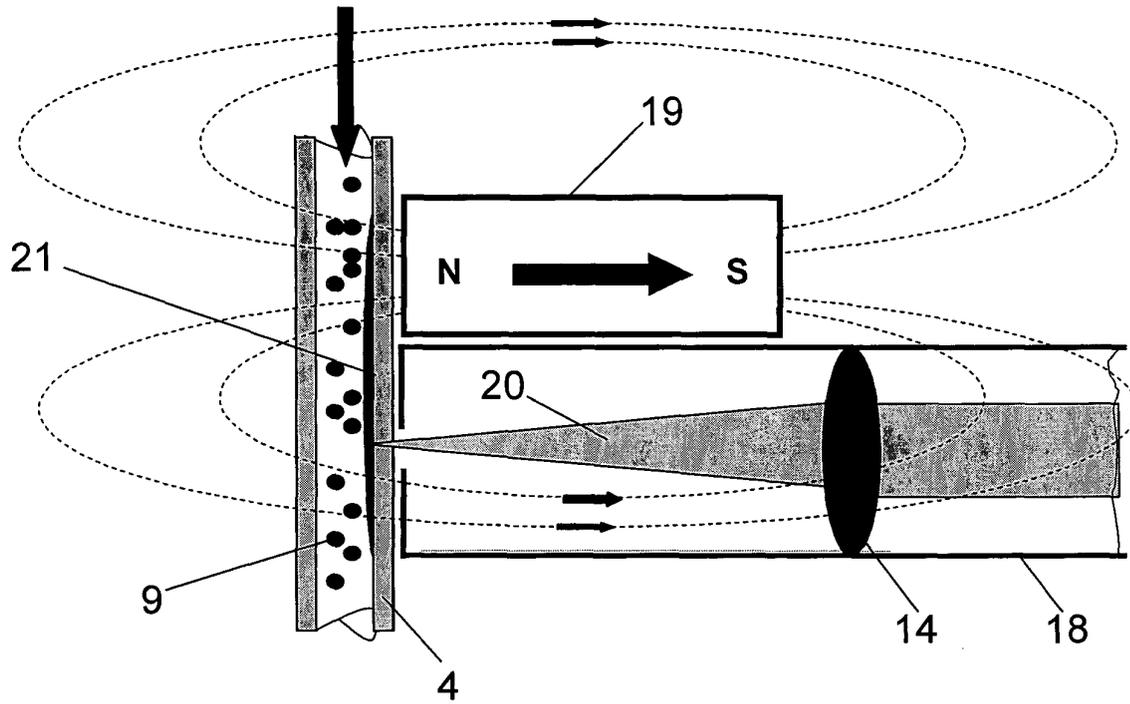


Fig. 3

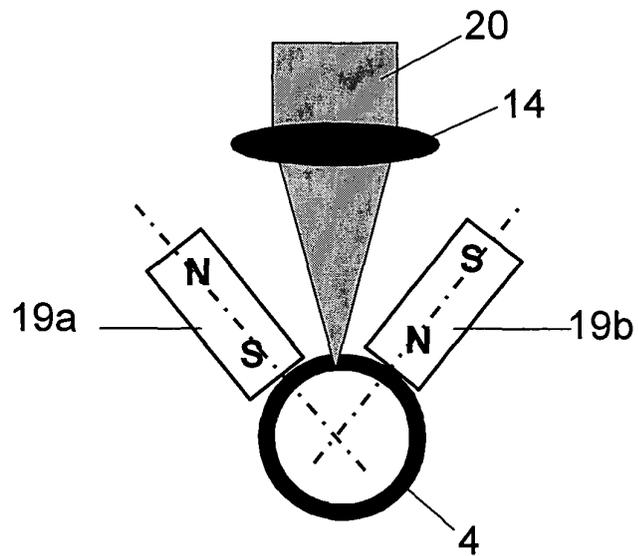


Fig. 4

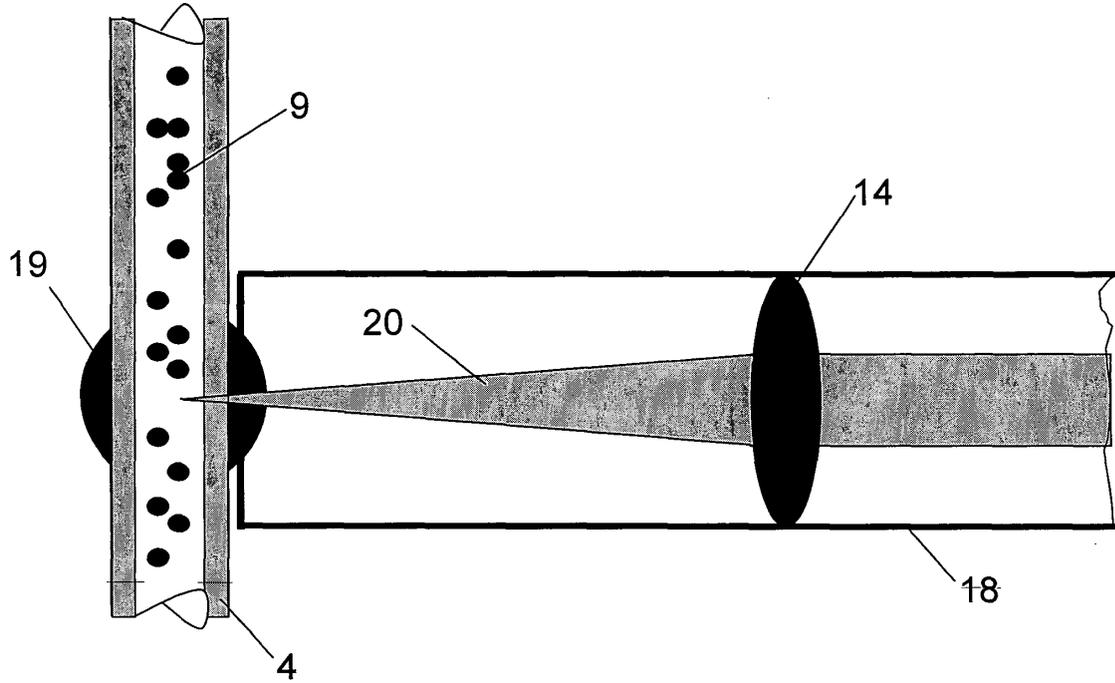


Fig. 5

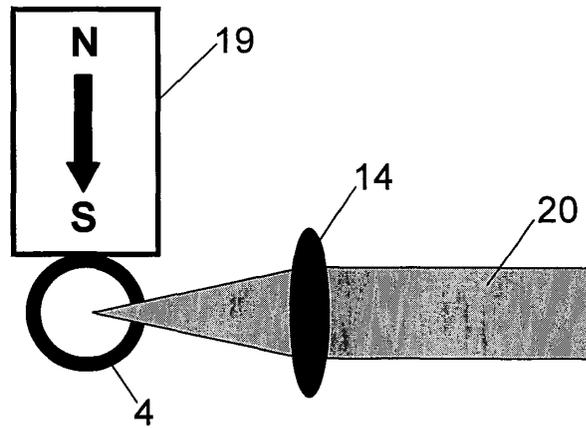


Fig. 6

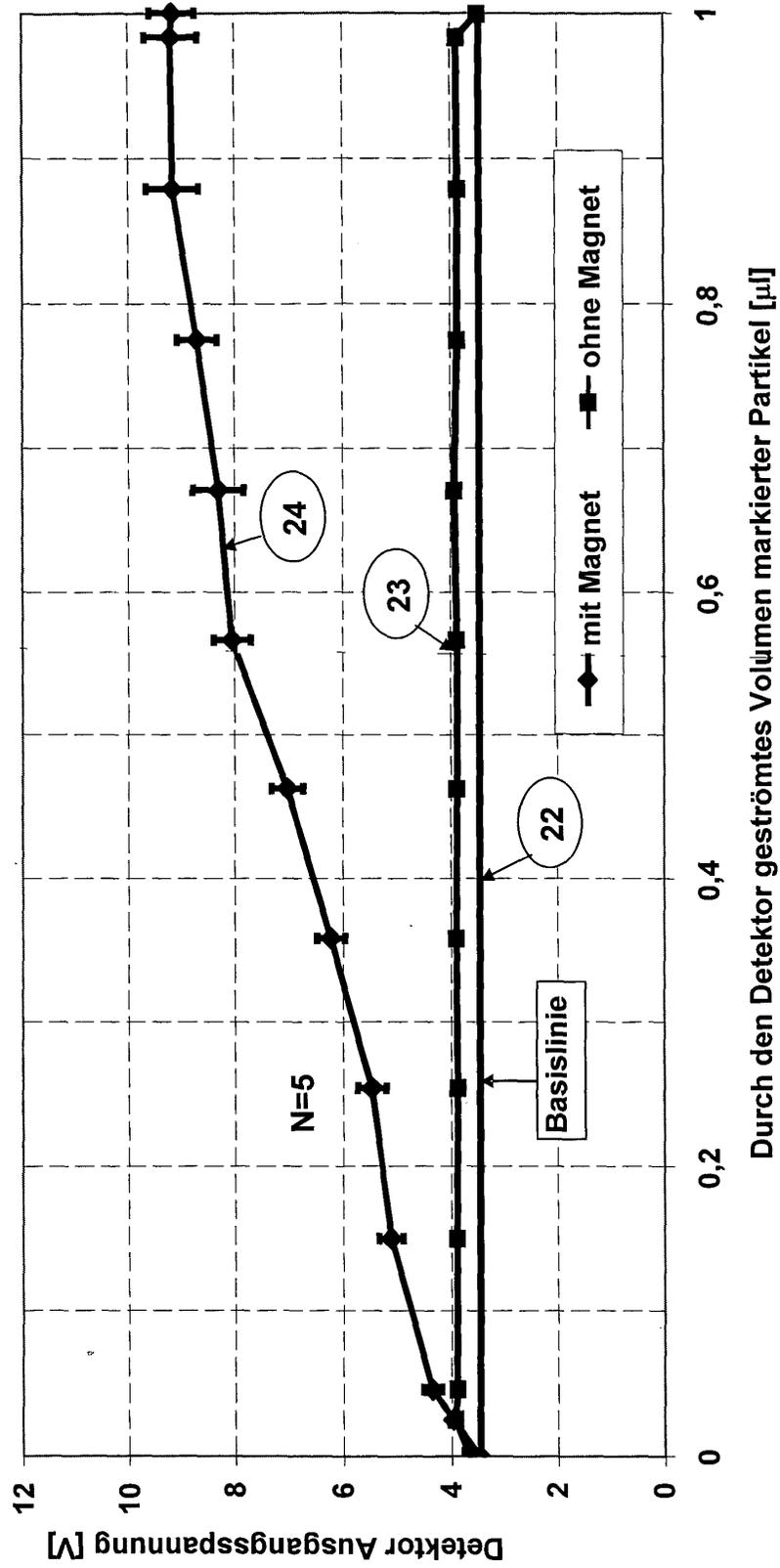


Fig. 7



Europäisches  
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 05 45 0044

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
X	US 5 993 740 A (NIIYAMA ET AL) 30. November 1999 (1999-11-30) * Anspruch 1 *	1-12	B03C1/28 B03C1/30
X	----- US 5 538 687 A (KOTZAN ET AL) 23. Juli 1996 (1996-07-23) * Spalte 3, Zeile 31 - Zeile 35 *	1,6	
X	----- WO 02/33419 A (TIBOTEC N.V; UNIVERSITEIT GENT; LEBLANS, MARC, JAN, RENE; GUSTIN, EMMA) 25. April 2002 (2002-04-25) * Ansprüche 21,26 *	1,6	
X	----- WO 94/11078 A (IMMUNIVEST CORPORATION; LIBERTI, PAUL, A; WANG, YUZHOU) 26. Mai 1994 (1994-05-26) * Seite 20, Zeile 36 - Seite 21, Zeile 16 *	1,6	
X	----- EP 0 854 194 A (IGEN, INC) 22. Juli 1998 (1998-07-22) * Seite 14, Zeile 45 - Zeile 55 *	1,6	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7) B03C G01N
1 Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort Den Haag		Abschlußdatum der Recherche 1. Juni 2005	Prüfer Demo1, S
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument ..... & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT  
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 05 45 0044

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.  
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

01-06-2005

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5993740 A	30-11-1999	KEINE	
US 5538687 A	23-07-1996	KEINE	
WO 0233419 A	25-04-2002	AU 1905202 A BR 0114757 A CA 2425775 A1 CN 1481505 A WO 0233419 A1 EP 1346224 A1 JP 2004524512 T NO 20031787 A US 2004069857 A1 ZA 200303008 A	29-04-2002 07-10-2003 25-04-2002 10-03-2004 25-04-2002 24-09-2003 12-08-2004 02-05-2003 15-04-2004 16-07-2004
WO 9411078 A	26-05-1994	WO 9411078 A1 US 5622831 A US 6013532 A US 5876593 A	26-05-1994 22-04-1997 11-01-2000 02-03-1999
EP 0854194 A	22-07-1998	EP 0854194 A2 AT 184320 T AU 676665 B2 AU 2347892 A CA 2112675 A1 DE 69229950 D1 DE 69229950 T2 EP 0594766 A1 ES 2137191 T3 GR 3031217 T3 JP 3053112 B2 JP 7508340 T KR 212178 B1 WO 9301308 A1 US 5770459 A US 5746974 A US 6448091 B1 US 5798083 A	22-07-1998 15-09-1999 20-03-1997 11-02-1993 21-01-1993 14-10-1999 09-03-2000 04-05-1994 16-12-1999 31-12-1999 19-06-2000 14-09-1995 02-08-1999 21-01-1993 23-06-1998 05-05-1998 10-09-2002 25-08-1998

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82