

(19)



(11)

**EP 2 055 384 A1**

(12)

**EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:  
**06.05.2009 Patentblatt 2009/19**

(51) Int Cl.:  
**B01L 3/00 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)**

(21) Anmeldenummer: **07021342.6**

(22) Anmeldetag: **31.10.2007**

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

(71) Anmelder: **Leukocare AG**  
**81379 München (DE)**

(72) Erfinder:  
• **Margraf, Stefan, Dr. med. Dipl.-Ing.**  
**60596 Frankfurt (DE)**  
• **Scholz, Martin, Prof. Dr.**  
**81379 München (DE)**

(74) Vertreter: **Vossius & Partner**  
**Siebertstrasse 4**  
**81675 München (DE)**

(54) **Vorrichtung zum Nachweis von Bestandteilen in einem Fluid**

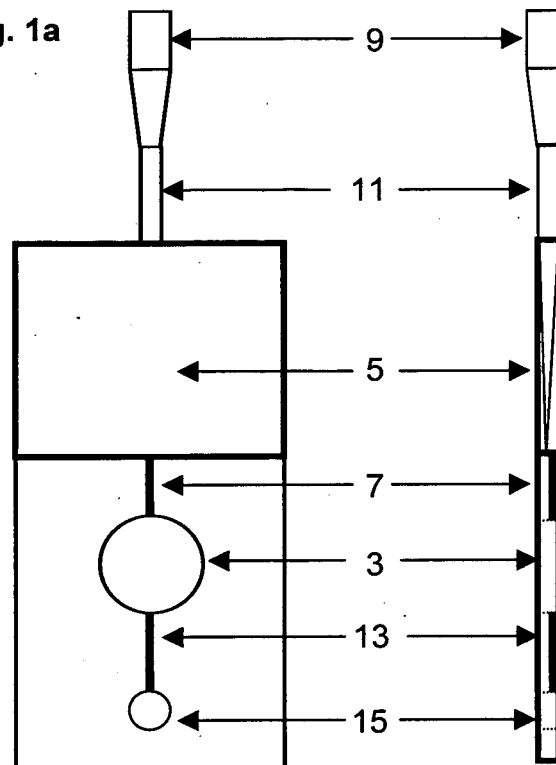
(57) Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zum Nachweis, insbesondere zur Bestimmung der Konzentration, von Bestandteilen in Blut oder Wasser. Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung einer Vorrichtung bzw. eines Verfahrens zur Bestimmung von Bestandteilen in Blut. Schließlich bezieht sich die Erfindung auf einen Kit, umfassend die Vorrichtung und einen Fluoreszenz-Stan-

dard.  
Die Vorrichtung nach Fig. 1-7 umfasst einen Messbereich (3) sowie einen mit diesem in Fluidverbindung stehenden Filterbereich (5). Der Filterbereich (5) und der Messbereich (3) sind vorzugsweise über einen ersten Fluidkanal (7) miteinander verbunden. Die Vorrichtung (1) weist vorzugsweise ferner eine Öffnung (9) auf, die vorzugsweise als Luer-Lock und weiterhin bevorzugt mit einem Ein-Wege-Ventil ausgebildet ist.

**Fig. 1**

**Fig. 1a**

**Fig. 1b**



**EP 2 055 384 A1**

## Beschreibung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zum Nachweis, insbesondere zur Bestimmung der Konzentration, von Bestandteilen in Blut oder Wasser. Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung einer Vorrichtung bzw. eines Verfahrens zur Bestimmung von Bestandteilen in Blut. Schließlich bezieht sich die Erfindung auf einen Kit, umfassend die Vorrichtung und einen DNA-Standard.

**[0002]** Nachfolgend wird eine Reihe von Dokumenten zitiert. Der Inhalt dieser Dokumente inklusive Bedienungsanleitungen ist hiermit in seiner Gesamtheit durch Referenz inkorporiert.

**[0003]** Verfahren zur medizinischen Diagnose werden routinemäßig verwendet, um anhand der Bestimmung der Anwesenheit und/oder der Konzentration von im Blut gelösten Stoffen den klinischen Status von Patienten abschätzen zu können. Bislang müssen Analysen des Blutplasmas und/oder Serums mit einem Zentrifugationsschritt durchgeführt werden, damit das zu analysierende Blutplasma von den festen Blutbestandteilen getrennt werden kann. Offensichtlich existieren keine geeigneten alternativen Verfahren oder eine Vorrichtung zur Abtrennung der festen Blutbestandteile. Zentrifugation ist nicht nur zeitaufwändig, sondern stellt gerade auch in Entwicklungsgebieten eine große Hürde dar, weil dort oftmals nicht nur Mangel an geeigneten Zentrifugen sondern auch am Strom zu deren Betreibung herrscht. Außerdem gibt es in vielen Gebieten der Erde oftmals kein Fachpersonal, das ohne weiteres Blutanalysen mit bekannten Mitteln durchführen könnte.

**[0004]** Es besteht daher Bedarf an einer Vorrichtung bzw. einem Verfahren, die/das die Analyse von in Blutplasma und/oder Serum befindlichen Stoffen insbesondere ohne Zentrifugation ermöglicht. Überdies sollte eine entsprechende Vorrichtung oder ein Verfahren auch ungeübtem Personal ohne zeitaufwändige Einarbeitung den schnellen, sauberen und richtigen Umgang mit solchen Analysen ermöglichen.

**[0005]** In US 5,186,843 wird ein Material zur Trennung von Plasma oder Serum aus Blut beschrieben. Das Material umfasst Glasmikrofasern, Zellulosefasern und synthetische Textilspinnfasern. Dieses Medium wird verwendet, um geringe Mengen Plasma zu erhalten, das sich innerhalb der zur Abtrennung verwendeten Schicht sammelt. Dabei sind jedoch die weiterhin nötige Sammlung und weitere Handhabung der Flüssigkeit für eine schnelle und saubere Diagnose hinderlich.

**[0006]** In US 4,816,224 wird eine Vorrichtung zur Abtrennung von Plasma oder Serum von Vollblut beschrieben, die unterschiedlich gestaltet sein kann. Glasfasern, die ein großes Volumen einnehmen, dienen zur Abtrennung. Die Vorrichtung kann mehrere Filterschichten aufweisen.

**[0007]** In US 2006/0029923 wird eine Vorrichtung beschrieben, die mittels einer in der Vorrichtung angebrachten Filtermembran und Druck die Auftrennung von Plas-

ma oder Serum von festen Blutbestandteilen ermöglicht. Die entsprechende Vorrichtung kann einen Detektionsstreifen enthalten, der den Nachweis von Bestandteilen im Blut durch immunochemische Nachweisverfahren ermöglicht. Diese Streifen ermöglichen allerdings keinen direkten Nachweis ohne weitere vom Personal auszuführende Schritte und ohne die Verwendung weiterer Hilfsmittel bzw. Hilfsstoffe. Die Vorrichtung ist primär zur Gewinnung von Blutplasma oder Serum zur weiteren Untersuchung gedacht.

**[0008]** Vorrichtungen wie oben beschrieben dienen also hauptsächlich zur Bereitstellung geringer Mengen von Plasma oder Serum für weitere Analysen.

**[0009]** Mit vorhandenen Verfahren und Vorrichtungen zur Untersuchung von Plasma oder Serum und/oder anderer Körperflüssigkeiten, die auf den schnellen Erhalt eines Messergebnisses ausgelegt sind, können oftmals nur Richtwerte erhalten werden und nicht selten der Abwesenheit über das Vorhandensein oder die Abwesenheit von zu messenden Bestandteilen einer Flüssigkeit gemacht werden. So geben beispielsweise Teststreifen nur Auskunft darüber, ob ein Stoff im Rahmen der Nachweiskapazität vorhanden ist oder nicht. Im Rahmen der Diagnose bestimmter Krankheiten und/oder Zustände in Proben aus Patienten sind diese Verfahren bzw. Vorrichtungen jedoch oftmals nicht geeignet, da nur genaue Messwerte über die Konzentration oder den Gehalt eines Stoffes in einem Fluid, z.B. Blut, Aufschluss geben über den genauen Zustand des Patienten und geeignete Behandlungsmethoden.

**[0010]** Es ist somit eine der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe, eine Vorrichtung und ein Verfahren bereitzustellen, die die Nachteile des Standes der Technik überwinden. Insbesondere ist es eine Aufgabe, eine Vorrichtung bereitzustellen, mittels derer die Trennung von Plasma oder Serum von Vollblut und eine Analyse von im Serum oder Plasma befindlichen Stoffen durchgeführt werden kann, ohne dass Zentrifugationsschritte oder ähnliche labortechnische Verarbeitungsschritte des gewonnenen Serums oder Plasmas notwendig sind. Weitere oder zusätzliche Aufgaben der vorliegenden Erfindung sind die Bereitstellung einer einfach, sicher und zuverlässig zu handhabenden Vorrichtung bzw. eines einfach durchzuführenden Verfahrens, das insbesondere eine Verwendung bzw. Durchführung durch Laien bzw. nicht medizinisch geschultes Personal erlaubt, das Bereitstellen einer Vorrichtung, die einfach und kostengünstig herzustellen und/oder zu Lagern ist, sowie die Bereitstellung eines entsprechenden Kits.

**[0011]** Diese Aufgabe wird durch die in den Ansprüchen definierten Merkmale gelöst.

**[0012]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich vorzugsweise auf eine Vorrichtung zum Nachweis, insbesondere zur Bestimmung der Konzentration, von Bestandteilen in Blut, aufweisend einen Messbereich, ein Filter sowie mindestens ein Detektionsreagenz zum Wechselwirken mit den Bestandteilen.

**[0013]** Im Falle einer Messung von Autofluoreszenz

oder Absorption von Fluidbestandteilen kann auch auf ein Detektionreagenz verzichtet werden.

**[0014]** Unter "Nachweis" von beispielsweise Stoffen versteht man insbesondere die Feststellung der An- oder Abwesenheit eines Stoffes. Dabei legt die Nachweisgrenze des Messverfahrens im Rahmen der erwünschten Genauigkeit das Ergebnis fest.

**[0015]** Die "Konzentration" von Stoffen ist, insbesondere im Gegensatz zur absoluten Stoffmenge, volumenunabhängig.

**[0016]** Unter "Bestandteilen in Blut" versteht man im Rahmen der vorliegenden Erfindung insbesondere in Blut vorhandene und/oder gelöste Stoffe. Die Stoffe können insbesondere organisch oder anorganisch oder eine Mischung aus beidem sein. Grundsätzlich lassen sich mit der Vorrichtung der vorliegenden Erfindung auch Bestandteile aus anderen Fluiden bestimmen. Fluide sind hier als Flüssigkeiten mit festen Bestandteilen oder Suspensionen zu verstehen. Vorzugsweise ist das Fluid eine Körperflüssigkeit. Körperflüssigkeiten sind zum Beispiel Blut, Liquor, Urin, seröse Flüssigkeiten, Speichel, Sperma oder krankhaft veränderter Stuhl.

Vorzugsweise ist das Fluid Wasser, insbesondere aus Leitungen, Bächen oder Seen etc. Hier kann beispielsweise bestimmt werden, ob eine gemessene DNA mit der Belastung des Wassers durch Mikroorganismen korreliert.

**[0017]** Ein "Messbereich" im Sinne der vorliegenden Erfindung ist insbesondere ein Raum, vorzugsweise mit einem definierten oder definierbaren Volumen, in dem mindestens ein Bestandteil eines Fluids bestimmt wird. Er ist vorzugsweise zumindest teilweise transparent und insbesondere für die Bestimmung der Substanz beziehungsweise des Bestandteils mit vorzugsweise optischen Verfahren geeignet.

**[0018]** Zur Verwendung mit bevorzugten Detektionsreagenzien, die bspw. durch Licht bestimmter Wellenlängenbereiche angeregt werden und Licht von bestimmten Wellenlängenbereichen emittieren, ist der Messbereich vorzugsweise für z. B. sichtbares Licht sowie das Licht der Emissionswellenlängen durchlässig.

**[0019]** Das Filter in der vorliegenden Erfindung kann jedes zur Auftrennung von Blut oder anderen Fluiden mit festen Bestandteilen geeignete Material umfassen oder aus einem solchen bestehen. Das Filter kann zum Beispiel Polyethyleneterephthalat (vertrieben beispielsweise durch die Firma Sekisui in einem Produkt zur Gewinnung von Serum) oder BTSSP (vertrieben durch die Firma Pall) umfassen.

**[0020]** Bereits bekannte geeignete Filter und/oder Filtermaterialien sind z. B. in US 4,816,224, US 5,186,843 oder US 2006/0029923 beschrieben.

**[0021]** Vorzugsweise umfasst das Filter Glasfasern, besteht jedoch nicht vollständig aus Glasfasern. Noch weiter bevorzugt liegt der Volumen- oder Gewichtsanteil an Glasfasern zwischen 0% und 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% oder 10% oder er liegt zwischen etwa 5% und 50% des Filters, bevorzugt zwischen etwa

10% und 50%. Am meisten bevorzugt ist ein Filtermaterial ohne Glasfasern. Für die Filtrierung von Blut sollte das Filtermaterial keine Hämolyse verursachen sowie keine Analyten binden.

5 **[0022]** Unter "Detektionsreagenz" im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird insbesondere eine Substanz, mit der die Anwesenheit und/oder die Konzentration einer anderen Substanz, bevorzugt einer in einem Fluid, z. B. Blut, Plasma oder Wasser befindlichen Substanz, nachgewiesen oder detektiert werden kann, verstanden. Dabei weist ein Detektionsreagenz vorzugsweise die Eigenschaft auf, unter bestimmten Bedingungen eine detektierbare Reaktion zu ermöglichen oder zu bedingen. Ein Detektionsreagenz interagiert vorzugsweise direkt mit der zu bestimmenden Substanz. Dabei geht es entweder eine kovalente oder eine nichtkovalente Bindung mit dieser Substanz ein. Bevorzugt fluoresziert das Detektionsreagenz verstärkt erst durch die Bindung an das Analyt.

10 **[0023]** Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist vorzugsweise eine gebrauchsfertige oder ready-to-use Vorrichtung, die den Nachweis und insbesondere Bestimmung der Konzentration der Bestandteile auf einfache und zuverlässige Weise ohne umfangreiche vorbereitende Maßnahmen ermöglicht. Die vorliegende Erfindung erweist sich insbesondere dahingehend als vorteilhaft, dass eine Vorrichtung bereitgestellt wird, die klein ist, mit handelsüblichen Geräten ausgelesen werden kann und/oder die Trennung der festen Bestandteile aus Fluiden, vorzugsweise aus Blut, mit der gleichzeitigen Messung von in der flüssigen Phase befindlichen Bestandteilen verbindet. Auf diese Weise wird nicht nur der Zentrifugationsschritt eingespart, der bislang notwendig war, um z.B. feste Blutbestandteile vom Serum oder Plasma abzutrennen, sondern es wird durch einfache und sichere Handhabung auch ungeübtem Personal die Analyse von Fluiden im Rahmen von diagnostischen Verfahren ermöglicht. Ein weiterer Vorteil ist die nun mögliche genaue Bestimmung der Konzentration von Bestandteilen beispielsweise zur Abschätzung des Zustandes von Patienten nach Operationen oder bei bestimmten Krankheitszuständen. Schließlich ermöglicht die vorliegende Vorrichtung die sofortige Messung der interessierenden Bestandteile (ready-to-use) ohne weitere Behandlung und/oder Verzögerung oder weitere notwendige Messschritte.

45 **[0024]** Vorzugsweise weist die Vorrichtung eine Öffnung zum Einbringen eines Fluids auf, wobei das Filter zwischen Öffnung und Messbereich angeordnet ist.

50 **[0025]** Vorzugsweise weist die Vorrichtung ferner einen Fluideingangsbereich auf, der vorzugsweise zwischen der Öffnung und dem Messbereich, weiter bevorzugt zwischen Öffnung und Filter angeordnet ist.

55 **[0026]** Im folgenden wird der Bereich zwischen der Öffnung und dem Messbereich und/oder dem Fluidkanal, vorzugsweise umfassend den Fluideingangsbereich, auch unter dem Begriff Filterbereich zusammengefasst.

**[0027]** Der Filterbereich hat vorzugsweise ein Fas-

sungsvermögen von zwischen ca. 200 und ca. 2000  $\mu$ l. Dabei können je nach Fluid- bzw. bevorzugt Blutmenge und -beschaffenheit bis zu 200  $\mu$ l Plasma oder Serum zur Messung im Messbereich gewonnen werden. Vorzugsweise erlaubt die erfindungsgemäße Vorrichtung die Bereitstellung eines zu messenden Volumens im Messbereich zwischen ca. 15  $\mu$ l und ca. 80  $\mu$ l, bevorzugt zwischen ca. 20  $\mu$ l und ca. 60  $\mu$ l und am meisten bevorzugt von ca. 40  $\mu$ l Serum oder Plasma.

**[0028]** Im Rahmen der vorliegenden Erfindung erfolgt vorzugsweise die Bestimmung von Bestandteilen in Serum oder Plasma bzw. Blutserum oder Blutplasma.

**[0029]** Unter "Plasma" versteht man vorzugsweise insbesondere die von festen Bestandteilen wie Zellen (Erythrozyten, weiße Blutzellen etc.) getrennte flüssige Phase des Blutes, die noch gerinnen kann.

**[0030]** Unter "Serum" versteht man vorzugsweise insbesondere den flüssigen Anteil des Blutes, der nach Gerinnung des Blutes durch Abtrennung der mit Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren zum Blutkuchen vermischten zellulären Bestandteile erhalten wird.

**[0031]** Grundsätzlich kann im Rahmen der vorliegenden Erfindung jede Substanz mit geeigneten Nachweisreagenzien bestimmt werden. Vorzugsweise ist der nachzuweisende oder zu bestimmende Bestandteil eine in Organismen vorkommende Substanz. In Organismen vorkommende Substanzen können organischer oder anorganischer Natur sein. Anorganisch sind zum Beispiel Mineralien oder Mineralsalze, Spurenelemente, anorganische Ionen, Metalle und Schwermetalle, etc.

**[0032]** Organische Substanzen können unterschiedlichen Substanzklassen angehören. Eine Gruppe von Substanzen bilden Proteine, zu denen auch Enzyme gehören. Enzyme wandeln ihr Substrat in ein Endprodukt um. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung können vorzugsweise sowohl das Enzym als auch das Substrat und/oder das Endprodukt bestimmt werden. Auch Nicht-Enzymproteine können vorzugsweise mit der Vorrichtung der vorliegenden Erfindung nachgewiesen oder bestimmt werden. Weitere Gruppen von organischen Substanzen umfassen Vitamine und Coenzyme, Nukleinsäuren, Cytokine, Hormone, Histone, Peptide, Zucker, etc.

**[0033]** Eine weitere Gruppe von Substanzen bilden Nukleinsäuren, die DNA und RNA in ihren einzel- und/oder doppelsträngigen Formen umfassen.

**[0034]** Vorzugsweise ist der nachzuweisende oder zu bestimmende Bestandteil ein biologisches Molekül, ausgewählt aus der Gruppe umfassend DNA, RNA, Proteine, Hormone, Cytokine. Die letztgenannten Stoffe können frei oder vergesellschaftet sein mit anderen Proteinen. Beispielsweise kann DNA in Plasma oder Serum auch als Komplex mit Histonen und/oder Elastase sowie Mikrosatelliten auftreten. Weiterhin bevorzugt ist der nachzuweisende oder zu bestimmende Bestandteil die DNA/RNA von intakten oder nicht intakten Bakterien, Viren und/oder Parasiten aus mit sonstigen Partikeln verschmutzten Wasserproben. Hierbei werden Partikel durch die Filtrierung zurück gehalten, während die in Mi-

kroorganismen enthaltene Nukleinsäure durch geeignete Fluoreszenzfarbstoffe einer Messung zugänglich gemacht werden kann.

**[0035]** Vorzugsweise ist der nachzuweisende oder zu bestimmende Bestandteil ein Arzneistoff. Arzneistoffe sind einem Individuum verabreichbare Stoffe zur Bekämpfung eines krankhaften Zustands oder einer Krankheit. Arzneistoffe können auch die oben genannten biologischen Moleküle sein.

**[0036]** Am meisten bevorzugt wird DNA bestimmt bzw. gemessen. Das im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendete Filter bindet bevorzugt nur wenig oder keine DNA. Der gebundene Anteil beträgt vorzugsweise weniger als 30%, bevorzugt weniger als 20%, am meisten bevorzugt weniger als 10% der im Fluid bzw. Blut enthaltenen DNA.

**[0037]** Qualitativ wie quantitativ lässt sich DNA auf vielerlei Art und Weise nachweisen. Dazu gehören PCR Verfahren ebenso wie der Nachweis durch spezifisch mit DNA interagierenden detektierbaren Agenzien. Die vorliegende Erfindung erlaubt bevorzugt die Bestimmung nicht zellgebundener DNA. Nicht zellgebundene DNA lässt sich mittels unterschiedlicher Verfahren bestimmen. Neben der Messung der Fluoreszenz nach Zugabe eines interkalierenden Farbstoffes wird auch die Messung der UV-Absorption von DNA zur Konzentrationsbestimmung herangezogen. Die hierfür notwendigen Probenvolumina sind inzwischen im niedrigen  $\mu$ l-Bereich angelangt (z. B. Messung mittels NanoDrop im Bereich ab 2  $\mu$ l). Die untere Messgrenze für DNA liegt z. Zt. etwa bei 10 ng/ml für das Fluoreszenzverfahren.

**[0038]** Nach größeren Operationen, insbesondere auch mit Herz-Lungen-Maschine, aber auch nach Unfällen mit Polytraumen, Sepsis, Verbrennungen sowie nach Ischämie/Reperfusionsskrankheit (nach arteriellem Verschluss) kommt es zu starken, mitunter überschießenden Aktivierungen des Immunsystems. Exemplarische, jedoch nicht abschließend, Krankheitszustände sind Operation, Polytrauma, Weichteiltrauma, Ischämie/Reperfusionsskrankheit, Infarkt, Ischämie, Embolie, Infektion, Sepsis, Transplantation, Vergiftung, Eklampsie, Nebenwirkungen von Medikamenten oder von Transfusionen. Diese können vorübergehende oder bleibende Schäden in Organen verursachen, aber auch zum Tode führen. Die zelluläre Komponente dieser Immunantwort wird durch neutrophile Granulozyten vermittelt. Zur Abschätzung der Folgen der Aktivierung ist es wichtig, über das Ausmaß des Geschehens zeitnah im Bilde zu sein.

**[0039]** Wie in US 60/827,571 offenbart, steigt die Konzentration nicht zellgebundener von Granulozyten freigesetzter DNA im Blut bei Vorliegen bestimmter pathologischer Ereignisse, die nicht durch Krebs oder Pathogene bedingt sind, an. Diese nicht zellgebundene DNA könnte je nach pathologischem Zustand frei und/oder in Form von so genannten NETs vorliegen, mit Proteinen dekorierten DNA-Netzwerken, die in diesem Falle nicht nur für die Abwehr von Mikroorganismen produziert werden, sondern auch allgemein im Zuge von Immunant-

worten freigesetzt werden, die durch bestimmte pathologische Ereignisse verursacht werden. Während Teile dieser NETs an den Kapillaren kleben bleiben, reißt ein weiterer Teil infolge des Blutstroms ab und befindet sich im Plasma und Serum.

**[0040]** Die vorliegende Erfindung stellt eine Vorrichtung und ein Verfahren bereit, die NETs nachzuweisen, die bereits innerhalb von Minuten nach Aktivierung der sie produzierenden Granulozyten freigesetzt werden. Der Nachweis in Proben von Patienten kann zu rechtzeitigen Reaktionen von Seiten der behandelnden Ärzte führen, die Leben retten können.

**[0041]** Weitere im Blut befindliche freie DNA wird aus abgestorbenen Zellen freigesetzt. Diese Zellen können durch apoptotische oder nekrotische Ereignisse abgestorben sein. Im Zuge mancher Therapien, zum Beispiel von Krebs mit Chemo- oder Strahlentherapie wird die Apoptose von Zellen, unter anderem von Blutzellen induziert. Der Therapieerfolg lässt sich somit direkt und fein abgestuft mit der vorliegenden Erfindung nachweisen.

**[0042]** Vorzugsweise ist das Vorhandensein und/oder die Konzentration des Bestandteils im Messbereich, vorzugsweise in Abhängigkeit des verwendeten Detektionsreagenz, mittels Lumineszenz, Fluoreszenz, Chemilumineszenz, Elektrochemilumineszenz, spektrale Absorptionsphotometrie, Autofluoreszenz und/oder Biolumineszenz bestimmbar.

**[0043]** Vorzugsweise ist das Filter ausgebildet, feste Bestandteile des das Filter durchfließenden Fluids abzutrennen, und insbesondere die feste und flüssige Phase des Fluids voneinander zu trennen. Einige Filtermaterialien können sich als sehr spröde oder brüchig erweisen, so dass eine Stabilisierung notwendig ist. Abhängig von der Beschaffenheit des Filters kann es ein Element zur Stabilisierung enthalten. Stabilisierungselemente sind vorzugsweise stabilisierende Umrandungen oder Rahmen oder aufgelagerte oder integrierte Netzwerke eines stabilen Materials, wie zum Beispiel Metall oder Kunststoff.

**[0044]** Vorzugsweise ist der Fluideingangsbereich, der vorzugsweise vom Filterbereich umfasst ist, der Vorrichtung derart ausgebildet, dass ein über Umgebungsdruck liegender Druck auf das Fluid ausgeübt wird. Die Vorrichtung ist vorzugsweise derart ausgebildet, dass ein solcher Druck beim Einbringen des Fluides, vorzugsweise durch eine Spritze oder dgl, aufgebaut wird.

**[0045]** Bevorzugt ist die Vorrichtung derart ausgebildet, dass das Fluid unter Druck durch das Filter in den Messbereich eingebracht wird. Dieser Druck kann vorzugsweise manuell ausgeübt werden, z. B. durch den Kolben einer Spritze, die das zu messende ungefilterte Fluid enthält.

**[0046]** Gemäß einer bevorzugten erfindungsgemäßen Ausführungsform herrscht in der Vorrichtung ein unter dem Umgebungsdruck liegender Druck, vorzugsweise ein Vakuum. Wird die zu bestimmende Probe mit der Vorrichtung in Kontakt gebracht, bewirkt der niedrige

Druck bzw. das Vakuum, dass die Probe ohne von außen ausgeübte Kraft in die Vorrichtung geleitet oder gesaugt wird und im Inneren der Vorrichtung die festen Bestandteile vom Fluid abgetrennt werden. Dabei ist der Messbereich vorzugsweise aus einem vorzugsweise elastischen Material, dass bestrebt ist, eine definierte Position oder Form einzunehmen. Vorzugsweise ist die Vorrichtung aus elastischem Material, das derart verformt ist, dass das Innenvolumen der Messkammer kleiner als das der definierten Position ist, so dass es sich z.B. beim Einleiten der Probe entfaltet bzw. die Probe beim Entfalten einsaugt. Weiterhin vorzugsweise ist der Messbereich aus einem unelastischen Material, wobei der Bereich innerhalb des Messbereichs einen niedrigeren Druck als den Umgebungsdruck aufweist, bevor die Probe in die Vorrichtung gelangt.

**[0047]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Detektionsreagenz im Messbereich oder in einem kurz vor dem Messbereich befindlichen Hohlraum/Lumen, der sich vorzugsweise zwischen Filter und Messbereich erstreckt, vorgesehen.

**[0048]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Detektionsreagenz im Filter oder in räumlicher Nähe zum Filter vorgesehen.

**[0049]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform interagiert das Detektionsreagenz direkt oder indirekt mit dem zu bestimmenden Bestandteil. Direkte Interaktion erfolgt vorzugsweise im Fall der Bestimmung von DNA mit Reagenzien, die sich an die DNA anlagern. Dabei kann die Anlagerung kovalent oder nichtkovalent erfolgen.

Bestimmte Substanzen lagern sich in doppelsträngige und auch einzelsträngiger DNA ein, ohne eine kovalente Bindung mit der DNA einzugehen (Interkalatoren). Zum Teil gewinnen die Substanzen erst dadurch die Eigenschaft der Fluoreszenz. Durch die Akkumulation in der DNA und Bestrahlung mit Licht bestimmter Wellenlängen emittieren diese Substanzen Licht unterschiedlicher Wellenlänge, welches quantitativ messbar ist und mit der DNA-Menge korreliert. Fluoreszenzfarbstoffe können auch andere als Interkalatoren sein und durch chemische Modifikation mit der zu messenden DNA in Kontakt gebracht werden. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Detektionsreagenz ausgewählt aus der Gruppe umfassend Pico-Green™, Alexa- oder Sytox®-Farbstoffen, Ethidiumbromid und SYBR®-Farbstoffe.

**[0050]** Im Rahmen der vorliegenden Erfindung erfolgt bevorzugt eine quantitative Bestimmung einer Substanz im Messbereich. Dazu ist es bei Vorhandensein nur eines Detektionsreagenzes vorteilhaft, dass das Detektionsreagenz bei Interaktion mit dem Zielmolekül seine Eigenschaften dahingehend ändert, dass es detektierbar wird. Wie weiter oben beschrieben, werden Interkalatoren erst bei Einlagerung in Nukleinsäuren detektierbar, wohingegen sie im ungebundenen Zustand diese Eigenschaft nicht aufweisen. Das im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendete Detektionsreagenz kann bereits vor Interaktion mit dem Zielmolekül detektierbar sein, ändert

jedoch vorzugsweise seine dahingehenden Eigenschaften bei Interaktion mit dem Zielmolekül. Dies erfolgt vorzugsweise durch Verschiebung des Absorptionsmaximums oder der Emissionswellenlänge eines Detektionsreagenzes.

**[0051]** Vorzugsweise umfasst die Messung der nicht zellgebundenen DNA die Bestimmung der Fluoreszenzemission nach Zugabe eines Fluoreszenzfarbstoffes zum Plasma oder Serum.

**[0052]** Grundsätzlich können alle Fluorophore im Rahmen der Erfindung verwendet werden. Die folgende nicht vollständige Liste gibt Beispiele für geeignete Fluorophore wieder: 1,5 IAEDANS, 1,8-ANS, 4-Methylumbelliferon, 4',6-Diamidino-2-phenylindol, 5-(and-6)-Carboxy-2', 7'-Dichlorofluorescein pH 9.0, 5-Carboxy-2,7-dichlorofluorescein, 5 Carboxyfluorescein (5-FAM), 5-Carboxynaphthofluorescein (pH 10), 5-Carboxytetramethylrhodamin (5-TAMRA), 5-FAM (5-Carboxyfluorescein), 5-FAM pH 9.0, 5-HAT (Hydroxy Tryptamin), 5-Hydroxy Tryptamin (HAT), 5-ROX (5-Carboxy-X-rhodamin, triethylammonium salz), 5-ROX (Carboxy-X-rhodamin), 5-ROX pH 7.0, 5-TAMRA (5-Carboxytetramethylrhodamin), 6 JOE, 6-Carboxyrhodamin 6G, 6-Carboxyrhodamin 6G pH 7.0, 6-Carboxyrhodamin 6G hydrochlorid, 6-CR 6G, 6-HEX, SE pH 9.0, 6-JOE, 6-TET, SE pH 9.0, 7-AAD (7-Amino-actinomycin D), 7-Amino-4-methylcoumarin, 7-Aminoactinomycin D (7-AAD), 7-Hydroxy-4-methylcoumarin, 9-Amino-6-chloro-2-methoxyacridin, ABQ, Acid Fuchsin, ACMA, ACMA (9-Amino-6-chloro-2-methoxyacridin), Acridin Homodimer, Acridinorange, Acridinorange + DNA, Acridinorange, DNA & RNA, Acridinrot, Acridingelb, Acriflavin, Acriflavin Feulgen SITSA, Aequorin, AFPs, Alexa 405, Alexa 430, Alexa 488, Alexa 546, Alexa 568, Alexa 594, Alexa Fluor 350™, Alexa Fluor 430 Antikörperkonjugat pH 7.2, Alexa Fluor 430™, Alexa Fluor 488 Antikörperkonjugat pH 8.0, Alexa Fluor 488 Hydrazidwasser, Alexa Fluor 488™, Alexa Fluor 532™, Alexa Fluor 546™, Alexa Fluor 568 Antikörperkonjugat pH 7.2, Alexa Fluor 568™, Alexa Fluor 594™, Alexa Fluor 610 R-phycoerythrin-Streptavidin pH 7.2, Alexa Fluor 647 R-phycoerythrin-Streptavidin pH 7.2, Alexa Fluor 633™, Alexa Fluor 647™, Alexa Fluor 660™, Alexa Fluor 680™, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 750, Alizarin Complexon, Alizarin Rot, Allophycocyanin (APC), AMC, AMCA-S, AMCA (Aminomethylcoumarin), AMCA-X, Aminoactinomycin D, Aminocoumarin, Aminomethylcoumarin (AMCA), Anilinblau, Anthrocylostearat, APC (Allophycocyanin), APC-Cy7, APTRA-BTC, APTS, Astrazon Brilliant Red 4G, Astrazon Orange R, Astrazon Red 6B, Astrazon, Yellow 7 GLL, Atabrin, ATTO-TAG™ CBQCA, ATTO-TAG™ FQ, Auramin, Aurophosphin, Aurophosphin G, BAO 9(Bisaminophenylloxadiazol), BCECF (high pH), BCECF (low pH), BCECF pH 5.5, BCECF pH 9.0, Berberinsulfat, Beta Lactamase, BFP, BFP/GFP FRET, Bimane, bis-Acridinorange, Bisbenzamid, Bisbenzimid (Hoechst), bis-BTC, Blancophor FFG, Blancophor SV, BOBO-3-DNA, BOBO™ -1, BOBO™ -3, Bodipy 492/515, Bodipy 493/503, Bodipy 500/510, Bo-

dipy 505/515, Bodipy 530/550, Bodipy 542/563, Bodipy 558/568, Bodipy 564/570, Bodipy 576/589, Bodipy 581/591, Bodipy 630/650-X, Bodipy 650/665-X, Bodipy 665/676, Bodipy FI, Bodipy FL ATP, BODIPY FL conjugate, BODIPY FL, MeOH, Bodipy FI-Ceramid, Bodipy R6G SE, Bodipy TMR, Bodipy TMR-X Konjugat, Bodipy TMR-X, SE, Bodipy TR, Bodipy TR ATP, BODIPY TR-X Phalloidin pH 7.0, Bodipy TR-X SE, BODIPY TR-X, MeOH, BODIPY TR-X, SE, BOPRO-3, BO-PRO-3-DNA, BO-PRO™ -1, BO-PRO™ -3, Brilliant Sulphoflavin FF, BTC, BTC-5N, Calcein, Calceinblau, Calcein pH 9.0, Calcein/Ethidium Homodimer, Calcium Crimson, Calcium Crimson Ca2+, Calcium Crimson™, Calcium Green, Calcium Green-1, Calcium Green-1 Ca2+, Calcium Green-2, Calcium Green-5N, Calcium Green-C18, Calcium Orange, Calcofluor White, Carboxy-X-rhodamine (5-ROX), Cascade Blue, Cascade Blue BSA pH 7.0, Cascade Blue™, Cascade Yellow, Cascade Yellow antibody conjugate pH 8.0, Catecholamine, CCF2 (GeneBlazer), CFDA, CFP, CFP (Cyan Fluorescent Protein), CFP/YFP FRET, Chlorophyll, Chromomycin A, Chromomycin A, CI-NERF pH 2.5, CI-NERF pH 2.5, CI-NERF pH 6.0, CI-NERF pH 6.0, CL-NERF, CMFDA, Coelenterazin, Coelenterazin cp, Coelenterazin f, Coelenterazin fcp, Coelenterazin h, Coelenterazin hcp, Coelenterazin ip, Coelenterazin n, Coelenterazin O, Coumarin Phalloidin, C-phycoyanine, CPM, CTC, CTC Formazan, Cy2™, Cy3.1 8, Cy3.5™, Cy3™, Cy5.1 8, Cy5.5™, Cy5™, Cy7™, Cyan 3, Cyan 6" Cyan GFP, cyclic AMP Fluorosensor (FiCRhR), CyQuant, CyQUANT GR-DNA, Dabcyl, Dansyl, Dansylamin, Dansylcadaverine, Dansylchlorid, Dansyl DHPE, Dansylfluorid, DAPI, Dapoxyl, Dapoxyl 2, Dapoxyl 3, DCFDA, DCFH (Dichlorodihydrofluoresceindiacetat), DDAO, DHR (Dihydrohodamin 123), Di-4-ANEPPS, Di-8 ANEPPS, Di-8-ANEPPS (non-ratio), Di-8-ANEPPS-lipid, DiA (4-Di-16-ASP), Dichlorodihydrofluoresceindiacetat (DCFH), DiD, DIDS, Dihydrohodamin 123 (DHR), Dihydroethidium, DiI (DiI18(3)), DiI<sub>18</sub> ("DiI") Dinitrophenol, DiO (DiOC18(3)), DiR, DiR (DiI18(7)), DM-NERF (high pH), DM-NERF pH 4.0, DM-NERF pH 7.0, DNP, Dopamin, DsRed, Draq5, DTAF, DY-630-NHS, DY-635-NHS, EBFP, ECFP, eCFP (Enhanced Cyan Fluorescent Protein), EGFP, eGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein), ELF 97, Eosin, Eosin Antikörperkonjugat pH 8.0, Erythrosin, Erythrosin ITC, Ethidiumbromid, Ethidiummonoazid, Ethidium Homodimer, Ethidium Homodimer -1 (EthD-1), Ethidium Homodimer-1-DNA, Ethidium Homodimer-2, Euchrysin, EukoLight, Europium-(III)-chlorid, EYFP, eYFP (Enhanced Yellow Fluorescent Protein), Fast Blue, FDA, Feulgen (Pararosanolin), FIF (Formaldehyd Induced Fluorescence), FITC, FITC Antikörper, FITC Antikörperkonjugat pH 8.0, Flazo Orange, Fluo-3, Fluo-3 Ca2+, Fluo-4, Fluorescein, Fluorescein (FITC), Fluorescein 0.1 M NaOH, Fluorescein Antikörperkonjugat pH 8.0, Fluoresceindextran pH 8.0, Fluoresceindiacetat, Fluorescein pH 9.0, Fluoro-Emerald, Fluoro-Gold (Hydroxystilbaminidin), Fluor-Ruby, FluorX, FM 1-43, FM 1-43 lipid, FM

1-43™, FM 4-64, Fura Red Ca<sup>2+</sup>, Fura Red, high Ca, Fura Red, low Ca, Fura Red™ (high pH), Fura Red™/Fluo-3, Fura-2, high calcium, Fura-2, low calcium, Fura-2/BCECF, Genacryl Brilliant Red B, Genacryl Brilliant Yellow 10GF, Genacryl Pink 3G, Genacryl Yellow 5GF, GeneBlazer (CCF2), GFP (S65T), GFP red shifted (rs-GFP), GFP wild type, non-UV excitation (wtGFP), GFP wild type, UV excitation (wtGFP), GFPuv, Gloxalic Acid, Granular Blue, Haematoporphyrin, HcRed, Hexidium iodide, Hoechst 33258 (bis-benzimid), Hoechst 33258, Hoechst 33342, Hoechst 34580, HPTS, Hydroxycoumarin, Hydroxystilbamidin, Hydroxystilbamidin (Fluoro-Gold), Hydroxytryptamin, Indo-1, high calcium, Indo-1, low calcium, Indodicarbocyanin (DiD), Indotricarbocyanin (DiR), Intrawhite, Cf, JC-1, JO-JO-1, JO-PRO-1, LaserPro, Laurodan, LDS 751, LDS 751 (DNA), LDS 751 (RNA), Leucophor PAF, Leucophor SF, Leucophor WS, Lissamine Rhodamine, Lissamine Rhodamine B, LIVE/DEAD Kit Animal Cells, , LOLO-1, LO-PRO-1, Lucifer Yellow, Lucifer Yellow, CH, Lyso Tracker Blue, Lyso Tracker Blue-White, Lyso Tracker Green, Lyso Tracker Red, Lyso Tracker Yellow, LysoSensor Blue, LysoSensor Green, LysoSensor Green pH 5.0, LysoSensor Yellow pH 3.0, LysoSensor Yellow/Blue, Mag Green, Magdala Red (Phloxin B), Mag-Fura Red, Mag-Fura-2, Mag-Fura-5, Mag-Indo-1, Magnesium Green, Magnesium Green Mg<sup>2+</sup>, Magnesiumorange, Malachitgrün, Marina Blue, Maxilon Brilliant Flavin 0 GFF, Maxilon Brilliant Flavin 8 GFF, Merocyanin, Methoxycoumarin, MitoTracker Green, Mitotracker Green FM, MitoTracker Green FM, MeOH, Mitotracker Orange, MitoTracker Red, MitoTracker Red, MeOH, Mitramycin, Monobromobiman, Monobromobiman (mBBBr-GSH), Monochlorobiman, MPS (Methyl Green Pyronine Stilbene), MRFP, NBD, NBD Amin, NBD-X, NBD-X, MeOH, NeuroTrace 500/525, green fluorescent Nissl stain-RNA, Nile Blue, EtOH, Nilrot, Nilrot-lipid, Nissl, Nitrobenzoxadidol, Noradrenalin, Nuclear Fast Red, Nuclear Yellow, Nylosan Brilliant lavin E8G, OliGreen®, Oregon Green, Oregon Green 488, Oregon Green 488 antibody conjugate pH 8.0, Oregon Green 488-X, Oregon Green 514, Oregon Green 514 antibody conjugate pH 8.0, Oregon Green™, Oregon Green™ 488, Oregon Green™ 500, Oregon Green™ 514, Pacific Blue, Pacific Blue Antikörperkonjugat pH 8.0, Pararosanilin (Feulgen), PBF1, PE-Cy5, PE-Cy7, PerCP, PerCP-Cy5.5, PE-TexasRed [Red 613], Phloxin B (Magdala Red), Phorwite AR, Phorwite BKL, Phorwite Rev, Phorwite RPA, Phosphin 3R, PhotoResist, Phycoerythrin B [PE], Phycoerythrin R [PE], PicoGreen dsDNA quantitation reagent, PKH26 (Sigma), PKH67, PMIA, Pontochrome Blue Black, POPO-1, POPO-1-DNA, POPO-3, POPO™-3 iodide, PO-PRO-1, PO-PRO-1-DNA, PO-PRO-3, Primulin, Procion Yellow, Propidiumiodid (PI), Propidiumiodid-DNA, PyMPO, Pyren, Pyronin, Pyronin B, Pyrozal Brilliant Flavin 7GF, QSY 7, Quinacrin Mustard, Red 613 [PE-TexasRed], Resorufin, RH 414, Rhod-2, Rhodamin, Rhodamin 110, Rhodamin 110 pH 7.0, Rhodamin 123, Rhodamin 123, MeOH, Rhodamin

5 GLD, Rhodamin 6G, Rhodamin B, Rhodamin B 200, Rhodamin B extra, Rhodamin BB, Rhodamin BG, Rhodamin Green, Rhodamin Phallicidin, Rhodamin Phalloidin, Rhodaminrot, Rhodamin WT, Rhodamingrün pH 7.0, Rhodol Green POPO-1-DNA pH 8.0, Ribogreen, Rose Bengal, R-phycoerythrin, R-phycoerythrin (PE), R-Phycoerythrin pH 7.5, RsGFP, S65A, S65C, S65L, S65T, Sapphire GFP, SBFI, Serotonin, Sevron Brilliant Red 2B, Sevron Brilliant Red 4G, Sevron Brilliant Red B, Sevron Orange, Sevron Yellow L, sgBFP™, sgBFP™ (super glow BFP), sgGFP™ (super glow GFP), SITS, SITS (Primuline), SITS (Stilbene Isothiosulphonic Acid), SNAFL calcein, SNAFL-1, SNAFL-2, SNARF calcein, SNARF1, Sodium Green, Sodium Green Na<sup>+</sup>, Spectrum Red, SpectrumAqua, SpectrumGreen, SpectrumOrange, SPQ (6-methoxy-N-(3-sulfopropyl)quinolinium), Stilbene, Sulphorhodamine B can C, Sulphorhodamine G Extra, SYBR® Green, SYBR® Green I, SYBR® Green II, SYBR® Gold, SYBR® Safe DNA, SYPRO Ruby, SYTO 11, SYTO 12, SYTO 13, SYTO 13-DNA, SYTO 14, SYTO 15, SYTO 16, SYTO 17, SYTO 18, SYTO 20, SYTO 21, SYTO 22, SYTO 23, SYTO 24, SYTO 25, SYTO 40, SYTO 41, SYTO 42, SYTO 43, SYTO 44, SYTO 45, SYTO 45-DNA, SYTO 59, SYTO 60, SYTO 61, SYTO 62, SYTO 63, SYTO 64, SYTO 80, SYTO 81, SYTO 82, SYTO 83, SYTO 84, SYTO 85, SYTOX Blue, SYTOX Blue-DNA, SYTOX Green, SYTOX Orange, Tetracyclin, Tetramethylrhodamin (TRITC), Texas Red™, Texas Red-X POPO-1-DNA pH 7.2, Texas Red-X™ conjugate, Thiadicarbocyanin (DiSC3), Thiazinrot R, Thiazolorange, Thioflavin 5, Thioflavin S, Thioflavin TCN, Thioflyte, Tinopol CBS (Calcofluor White), TMR, TO-PRO®-1 iodide, TO-PRO®-3 iodide, TO-PRO-1, TO-PRO-1-DNA, TO-PRO-3, TO-PRO-5, TOTO-1, TOTO-1-DNA, TOTO-3, TriColor (PE-Cy5), TRITC TetramethylRodaminelsoThioCyanat, True Blue, TruRed, Ultralite, Uranin B, Uvitex SFC, wt GFP, WW 781, X-Rhod-1 Ca<sup>2+</sup>, X-Rhodamin, XRITC, Xylenorange, Y66F, Y66H, Y66W, Yellow GFP, YFP, YO-PRO®-1 iodide, YO-PRO-1, YO-PRO-1-DNA, YO-PRO-3, YOYO-1, YOYO-1-DNA, YOYO-3

**[0053]** Besonders bevorzugt sind hierbei 4',6-diamidino-2-Phenylindol, 7-AAD (7-aminoActinomycin D), Acridineorange, DNA & RNA, Acridinrot, Alexa Fluor 594™, Alexa Fluor 610 R-Phycoerythrin Streptavidin pH 7.2, Alexa Fluor 647 R-Phycoerythrin Streptavidin pH 7.2, Alexa Fluor 633™, Alexa Fluor 647™, Alexa Fluor 660™, Alexa Fluor 680™, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 750, Allophycocyanin (APC), BOBO-3-DNA, BOBO™ -3, Bodipy 650/665-X, Cy5.5™, Cy5™, DAPI, DDAO, DraG5, Ethidiumbromid, Ethidiummonoazid, Ethidium Homodimer, Ethidium Homodimer-1 (EthD-1), Ethidium Homodimer-1-DNA, Ethidium Homodimer-2, Hoechst 33258, Hoechst 33342, LDS 751, LDS 751 (DNA), LOLO-1, MitoTracker Red, Nile Blue-EtOH, OliGreen®, PicoGreen dsDNA Quantifizierungsreagenz, POPO-1-DNA, PO-PRO-1-DNA, Propidiumiodid (PI), Propidiumiodid-DNA, Ribogreen, SYBR® Green I, SYBR® Green II, SYBR® Gold, SYBR® Safe DNA, SYPRO Ruby, SYTO 60, SYTO

61, SYTO 62, SYTO 63, SYTO 64, SYTOX Orange, Texas Red™, TO-PRO-1-DNA, TO-PRO-3, TO-PRO-5, TOTO-1-DNA, TOTO-3, YO-PRO-1-DNA, YO-PRO-3, YOYO-1, YOYO-1-DNA und YOYO-3.

**[0054]** Am meisten bevorzugt ist Pico-Green™ und/oder SYTOX Green.

**[0055]** Dabei liegt die Dosis an Pico-Green™ vorzugsweise bei etwa 0,01 bis 5 µl Reagenz, bevorzugt bei 0,05 bis 2 µl, noch weiter bevorzugt 0,1 bis 0,5 µl Reagenz, am meisten bevorzugt bei 0,15 bis 0,3 µl Reagenz pro Messung bei ca. 40 µl Probenvolumen. Die Menge an verwendetem Reagenz wird dabei dem Probenvolumen angepasst. Bei Vorhandensein des Detektionsreagenzes in fester Form entspricht die Menge an Feststoff in ihrem Gehalt an Detektionsreagenz dem Gehalt an gelöstem Feststoff in o.g. Volumina.

**[0056]** Vorzugsweise weist die Öffnung der Vorrichtung ein Ein-Wege-Ventil auf.

Weiterhin vorzugsweise weist die Öffnung ein Luer-Lock auf. Ferner bevorzugt ist der Filterbereich durch eine, vorzugsweise elastische, Folie ausgebildet bzw. abgegrenzt. Die Folie ist vorzugsweise aus einem künstlichen oder natürlichen Polymer oder auch Mischpolymer.

**[0057]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die Vorrichtung eine Einweg-Vorrichtung.

**[0058]** Vorzugsweise ist das Filter ausgebildet, um Serum und/oder Plasma vom Blut abzutrennen. Hierbei findet bevorzugt keine Lyse der Blutzellen statt, die das Messergebnis beeinflussen kann.

**[0059]** Innerhalb des Filters können Stoffe vorhanden sein, welche Bilirubin, Hämoglobin oder dispergierte Lipide (auch Micellen) entfernen (binden) können. Solche Stoffe können beispielsweise Titandioxide oder Colestyramin sein.

**[0060]** Bei der Bestimmung von DNA können Restmengen an Thrombozyten vorhanden sein, ohne die Messung an sich nachteilig zu beeinflussen. Bei Messungen anderer Bestandteile ist eine vollständige Abtrennung der Thrombozyten von Vorteil, die mit einem Filtersandwich bestehend aus mehreren Lagen unterschiedlicher Filter an entsprechender Stelle in der Vorrichtung erfolgen kann.

**[0061]** Bevorzugt ist die Vorrichtung, insbesondere betreffend ihre Abmessungen, mit handelsüblichen Detektionsvorrichtungen kompatibel. Dazu gehören insbesondere handelsübliche Photometer, wie zum Beispiel das Picofluor, TBS380 (Turner Biosystems, USA) oder das Qubit (Invitrogen, USA).

**[0062]** Bevorzugt weist die Vorrichtung und/oder zumindest Teilbereiche der Vorrichtung die Maße einer handelsüblichen Küvette auf und hat vorzugsweise einen Durchmesser von etwa 10mm und/oder eine Länge von etwa 50 mm +/-15 mm oder wird mittels eines Adapters an die Größe einer handelsüblichen Küvette angepasst.

**[0063]** Auch bevorzugt weist die Vorrichtung, insbesondere für eine Verwendung mit dem Qubit-Gerät, eine Küvette in Form einer PCR-Tube (bevorzugt mit einem Verwendungsvolumen von 0,5ml) auf.

**[0064]** Auch bevorzugt kann die Küvette miniaturisiert sein, z. B. aus einem klarem Röhrchen aus Kunststoff oder Glas bestehen, mit einem Füllvolumen von etwa 20-100 µl, einer Länge von etwa 5-25mm und einem Innendurchmesser von etwa 1-4 mm.

**[0065]** Vorzugsweise weist die Vorrichtung mindestens eine Entlüftungseinrichtung auf. Die Entlüftung findet vorzugsweise mittels einer schmalen Rinne, eines Kanals oder eines Spaltes, vorzugsweise von wenigen mm Länge, statt, welche(r) in die Messkammer mündet bzw. von dieser abgeht und deren/dessen anderes Ende über eine Membrane von der Außenluft beziehungsweise Umgebung getrennt ist. Diese Membran ist vorzugsweise eine semipermeable Membrane welche für Luft bzw. Gas, nicht jedoch wässriges Fluid durchlässig ist. Im Falle der Verwendung einer Küvette ist die semipermeable Membrane besonders bevorzugt am unteren Ende des Röhrchens, vorzugsweise als Verschluss des Röhrchens angebracht.

**[0066]** Die vorliegende Vorrichtung stellt eine Vorrichtung bereit, die eine integrierte Messkammer mit automatischer Mengenabmessung aufweist. Dabei schließt sich der Messbereich vorzugsweise in Einfüllrichtung bzw. Flussrichtung des Fluids hinter dem Filter an und füllt sich infolge der Konstruktion, Anordnung und Entlüftung vorzugsweise luftblasenfrei mit Filtrat beziehungsweise gefiltertem Fluid auf. Dies erfolgt vorzugsweise in einer genau bestimmbaren und korrekten Menge, passend oder abgestimmt auf die Menge des Detektionsreagenz, so dass nach Befüllung bis zur semipermeablen Membran kein weiterer Fluss stattfinden kann. Dabei ist das Volumen determiniert durch die Volumina der Fluidräume in dem Küvettenteil. Die vorliegende Erfindung erlaubt somit insbesondere eine automatische Mengenabmessung bzw. Mengenvorbestimmung mit dem Vorteil, dass insbesondere pipettieren oder sonstiges Fluidhandling nicht notwendig ist.

**[0067]** Der Messbereich kann auch bereits teilweise vorgefüllt sein, wobei diese Vorfüllung einen Verdünnungspuffer mit einem Detektionsreagenz aufweisen kann. Das verbleibende füllbare Volumen des Messbereichs kann dann mit einer durch das Restvolumen limitierten und damit definierten Menge an gefiltertem Fluid gefüllt und kann nach einer kurzen Inkubationszeit in einem Fluoreszenzphotometer gemessen werden. Nach Abgleich des so erhaltenen Messwertes mit einem Standard unter Berücksichtigung eines Leerwertes (oder Blanks) kann die Menge eines Stoffes, der in dem Fluid enthalten ist, bestimmt werden.

**[0068]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die Entlüftungseinrichtung mit der Messkammer durch eine schmale Rinne oder einen Spalt verbunden, der/die gegenüber der Eingangsöffnung der Messkammer angeordnet ist.

**[0069]** Vorzugsweise liegt der Messbereich in Form eines herkömmlichen (PCR-) Röhrchens, weiter bevorzugt mit einer Belüftungseinrichtung, vor bzw. ist als solches ausgebildet, auf das die verbleibende Vorrichtung auf-



gesteckt ist.

**[0070]** Vorzugsweise weist die Vorrichtung mindestens einen zweiten Messbereich auf. Damit werden die gleichzeitige Bestimmung von mehreren Messwerten oder die gleichzeitige Bestimmung eines oder mehrerer Eichwerte möglich. Vorzugsweise weist die Vorrichtung mindestens einen weiteren Messbereich zur Bereitstellung eines Leer- bzw. Eichwerts auf.

**[0071]** Vorzugsweise interagiert der zu bestimmende Bestandteil mit zwei Detektionsreagenzien. In diesem Falle erfolgt der Nachweis bzw. die Konzentrationsbestimmung mit zwei Detektionsreagenzien in einer Zweischrittreaktion. Dabei interagiert das zuerst bindende Detektionsreagenz spezifisch mit dem zu bestimmenden Bestandteil. Dieses erste Reagenz ist bevorzugt an eine detektierbare Substanz gekoppelt. Die detektierbare Substanz entspricht vorzugsweise einem der obengenannten Fluoreszenzfarbstoffe.

**[0072]** Vorzugsweise ist das zweite Detektionsreagenz an einen bestimmten Bereich im Messbereich immobilisiert.

**[0073]** Vorzugsweise befindet sich das erste Detektionsreagenz in der Vorrichtung in einem Bereich vor dem Messbereich, z.B. in einem dorthin führenden Fluidkanal, Filterbereich oder in einer Mischkammer. Vor Eintritt in den Messbereich soll das Blut bzw. das abgetrennte Plasma oder Serum mit dem ersten Detektionsreagenz in Kontakt gelangen, so dass letzteres an den zu bestimmenden Stoff binden kann. Der Komplex aus zu bestimmendem Stoff und erstem Detektionsreagenz gelangt dann mit dem Plasma oder Serum in den Messbereich, wo er an ein zweites Detektionsreagenz bindet, das in einem bestimmten Bereich des Messbereiches immobilisiert ist. Durch die Akkumulation des Komplexes an dieser Stelle wird der zu bestimmende Bestandteil nachweisbar. Überschüssiges erstes Detektionsreagenz bleibt gleichmäßig im Serum oder Plasma verteilt. Es kann ein Kontrollwert bestimmt werden, der die Konzentration des in der gesamten Lösung verteilten ersten Detektionsreagenzes widerspiegelt. Dieser Kontrollwert kann auch als Schwellen- oder Grenzwert in ein geeignetes Messgerät über eine Software einprogrammiert sein. Im Falle dieser Zweischrittreaktion betrachtet man beide zum Nachweis zugesetzten Reagenzien als Detektionsreagenzien, wobei das erste Detektionsreagenz nicht wie oben beschrieben seine Eigenschaft der Detektierbarkeit bei Bindung des zu bestimmenden Bestandteils ändern muss. Es ist jedoch bevorzugt, dass das erste Detektionsreagenz diese Eigenschaft aufweist. Beide Detektionsreagenzien binden direkt an den zu bestimmenden Bestandteil, so dass der eigentliche Nachweis bzw. die Bestimmung des Bestandteils durch Detektion des ersten Detektionsreagenz erfolgt, während das zweite Detektionsreagenz das Antigen an einer Position fixiert und diese Position nach einer Anreicherung infolge eines finiten Durchströmens mit antigenhaltiger Flüssigkeit einer fotooptischen Messung zugeführt wird.

**[0074]** In dieser Zweischrittreaktion sind die Detekti-

onsreagenzien vorzugsweise Antikörper oder Antikörperfragmente. Im Falle des ersten Detektionsreagenzes ist der Antikörper an eine zu detektierende Substanz gekoppelt. Hierfür eignen sich z.B. R-Phycoerythrin (PE), Fluoresceinisothiocyanat (FITC), PE-Cy5 Allophycocyanin (APC), PE-Texas Red™, Peridinin Chlorophyll Protein (PerCP), PerCP-Cy5.5, APC-Cy7, und/oder Texas Red™, usw.

**[0075]** In einer Zweischrittreaktion zu bestimmende Bestandteile sind zum Beispiel körpereigene Stoffe wie Interleukin 6 (IL-6), Hämoglobin, Bilirubin, CRP, Lactoferrin, Procalcitonin, AT-III, Protein C, p24 (HIV) oder Antikörper. Auch körperfremde Stoffe wie Viren, Bakterien, Medikamente, Gifte, Drogen oder Fragmente der genannten Stoffe können so zur Bestimmung gelangen.

**[0076]** Die erfindungsgemäße Vorrichtung ermöglicht so die qualitative und/oder quantitative Bestimmung eines Blutbestandteils, insbesondere ohne weitere, manuelle oder labortechnische Arbeitsschritte.

**[0077]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich außerdem auf ein Verfahren zum Nachweis, insbesondere zur Bestimmung der Konzentration, von Bestandteilen in Blut, vorzugsweise unter Verwendung einer Vorrichtung der vorliegenden Erfindung. Das Verfahren umfasst die Schritte (a) Bereitstellen einer Vorrichtung aufweisend einen Messbereich, ein Filter und ein Detektionsreagenz, (b) Einbringen eines Fluids in die Vorrichtung, und (c) Nachweisen des bzw. Messen der Konzentration des Bestandteils unter Verwendung der Vorrichtung. Der Schritt des Nachweisens des bzw. Messens der Konzentration des Bestandteils erfolgt vorzugsweise unter Verwendung einer herkömmlichen Messeinrichtung, vorzugsweise ein Fluoreszenzphotometer.

**[0078]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich außerdem auf die Verwendung einer Vorrichtung bzw. eines Verfahrens der vorliegenden Erfindung zur Bestimmung von Bestandteilen in Blut, wie z.B., Bilirubin, freiem Hämoglobin, IL-6 oder p24 (HIV-Protein), CRP. Weiter bevorzugt ist die Verwendung zur Bestimmung von zellfreier DNA. Hämoglobin oder Bilirubin wird vorzugsweise gemessen durch Messung der Photoabsorption bei Verwendung geeigneter Wellenlängen oder auch durch Messung der charakteristischen Eigenfluoreszenz dieser Stoffe.

**[0079]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich weiterhin auf ein Kit, umfassend mindestens eine Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung, und einen (Fluoreszenz-) Standard der z. B. DNA enthalten kann. Der Kit umfasst weiterhin vorzugsweise eine Spritze, vorzugsweise mit Zubehör zur Entnahme von Blut von einem Patienten, und/oder eine Messeinrichtung. Weiterhin umfasst der Kit vorzugsweise eine Bedienungsanleitung mit Interpretationshilfen. Die Messeinrichtung kann weiterhin ein Gerät umfassen, welches besonders zur Messung der Proben, welche mit der Vorrichtung hergestellt wurden, geeignet ist. Dazu kann eine Software gehören, welche eine Speicherung und Verwaltung der Daten erlaubt. Hierzu kann ein Adapterkabel gehören. Es kann

weiter ein Batteriepack dazugehören, welches netzunabhängige Messungen ermöglicht.

**[0080]** Im Folgenden werden bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung unter Bezugnahme auf die Figuren beschrieben. Hierbei zeigen:

- Figur 1 eine bevorzugte Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einem Messbereich wobei Figur 1a eine schematische Draufsicht der Vorrichtung und Figur 1b einen schematischen Schnitt in einer Seitenansicht der bevorzugten Vorrichtung zeigt;
- Figur 2 eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung mit zwei parallelen Messbereichen;
- Figur 3 eine schematische Draufsicht auf eine weitere bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung mit zwei Messbereichen;
- Figur 4 eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung mit drei Messbereichen;
- Figur 5 schematische Draufsichten auf weitere bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung, wobei Figur 5a eine bevorzugte Ausführungsform mit einem flußoptimierten Messbereich und Figur 5b eine bevorzugte Ausführungsform mit anders flußoptimierten Messbereich darstellen;
- Figur 6 eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung mit integriertem Immunassay mit einem Plasma Reservoir;
- Figur 7 eine schematische Ansicht einer bevorzugten erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einem scheibenförmig ausgeführten Filter, wobei Fig. 7a eine schematische Draufsicht auf die Vorrichtung darstellt und Fig. 7b eine schematische Ansicht der Vorrichtung gemäß Fig. 7a aus Sicht von oben in Fig. 7a; Figur 8 eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung;
- Figur 9 eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung;
- Figur10 eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung; und

Figur11 eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung.

- 5 **[0081]** Die erfindungsgemäße Vorrichtung, wie beispielsweise in Figur 1 und 8 gezeigt, dient dem Nachweis und vorzugsweise der Bestimmung der Konzentration von Bestandteilen in Fluiden. Vorzugsweise ist das Fluid Blut und der zu bestimmende Bestandteil DNA.
- 10 **[0082]** Die Vorrichtung nach Fig. 1-7 umfasst einen Messbereich 3 sowie einen mit diesem in Fluidverbindung stehenden Filterbereich 5. Der Filterbereich 5 und der Messbereich 3 sind vorzugsweise über einen ersten Fluidkanal 7 miteinander verbunden. Die Vorrichtung 1 weist vorzugsweise ferner eine Öffnung 9 auf, die vorzugsweise als Luer-Lock und weiterhin bevorzugt mit einem Ein-Wege-Ventil ausgebildet ist. Die Öffnung 9 befindet sich vorzugsweise direkt am Fluideingangsbereich des Filterbereichs 5 oder ist mit diesem über einen
- 20 Schlauch 11, vorzugsweise umfassend ein Polymer, vorzugsweise aus Polyvinylchlorid (PVC) oder Polyethylen (PE), verbunden.
- [0083]** Der Filterbereich 5 ist vorzugsweise elastisch undbeutelartig ausgebildet und weiterhin oder zusätzlich vorzugsweise aus weichem PVC, PE, einem Misch- oder auch Compositpolymer. Die Öffnung 9 ist vorzugsweise derart ausgebildet, beispielsweise durch Ausbildung als Luer-Lock, dass eine handelsübliche Spritze (nicht dargestellt) mit ihr verbunden werden kann. Beispielsweise wird durch eine solche Spritze eingefülltes Fluid, insbesondere Blut, über die Öffnung 9 und gegebenenfalls den Schlauch 11 in den Filterbereich 5 eingebracht. Hierbei ist der Filterbereich 5 vorzugsweise derart ausgebildet, dass er beim Einbringen einer bestimmten Menge bzw.
- 30 eines bestimmten Volumens an Fluid eine vorbestimmte Dehnung erfährt, die wiederum einen bestimmten Druck auf den Innenraum des Filterbereichs 5 bedingt. Materialien, einzubringendes bzw. benötigtes Volumen und dergleichen sind vorzugsweise dementsprechend aufeinander abgestimmt. Die Ausbildung der Öffnung 9 mit einem Ein-Wege-Ventil verhindert das Austreten des unter Druck stehenden, im Fluideingangsbereich des bzw. Filterbereich(s) 5 vorhandenen Fluids.
- [0084]** Durch den nun im Filterbereich 5 herrschenden Druck wird das in ihm enthaltene Fluid durch ein Filter, vorzugsweise eine Spezialmembran, die weiterhin bevorzugt in den Filterbereich 5 eingeschweißt ist, gedrückt.
- [0085]** Neben der Öffnung 9 weist der Filterbereich 5 vorzugsweise einen Ausgang auf, der in den Fluidkanal 7 mündet, der wiederum zum Messbereich 3 führt. Vorzugsweise ist das Filter derart angeordnet, dass das im Filterbereich 5 vorhandene, unter Druck stehende Fluid durch das Filter (nicht dargestellt) in den Fluidkanal 7 und damit in den Messbereich 3 transportiert wird. Das so gefilterte Fluid, vorzugsweise das Blutplasma und insbesondere vorzugsweise ein vorbestimmtes Volumen an Blutplasma wird so in der Messkammer 3 bereitgestellt.

**[0086]** Das vorgenannte gilt in Analogie ebenso für die bevorzugten Ausführungsformen nach Fig. 8-11, nur das die Teile Messbereich 3, Fluidkanal 7, Entlüftungskanal 13, wie im Zusammenhang mit den Figuren 1-6 beschrieben, in ein Teil 17 integriert wurden, welches vorzugsweise mit einer semipermeablen Membrane 15 abgeschlossen wird.

**[0087]** Die Vorrichtung weist ferner ein Detektionsreagenz, vorzugsweise Pico-Green™ auf, das in der Messkammer 3 und/oder im Fluidkanal 7 derart vorgesehen ist, dass es mit dem durch den Fluidkanal fließenden Blutplasma oder Serum und/oder mit dem in der Messkammer 3 gesammelten Blutplasma oder Serum in Kontakt kommt und insbesondere interagiert, vorzugsweise derart, dass ein Nachweis, insbesondere eine Bestimmung der Konzentration von Bestandteilen im Fluid bzw. Blutplasma, ermöglicht wird.

**[0088]** Hierzu sind die Vorrichtung und insbesondere die Volumina von Messbereich 3, Filterbereich 5 und Fluidkanal 7 (respektive Teil 17) sowie die Eigenschaften des Filterbereichs 5 hinsichtlich Elastizität und Druckaufbau sowie des Filters hinsichtlich der Filter- und Durchlasseigenschaften derart aufeinander abgestimmt, dass in der Messkammer 3 beziehungsweise im Fluidkanal 7 (respektive Teil 17) eine vorbestimmte Menge an Blutplasma vorhanden ist, die mit einer vorbestimmten Menge an Detektionsreagenz interagiert.

**[0089]** Vorzugsweise ist die Messkammer 3 und/oder der Fluidkanal 7 (respektive Teil 17) auf ihrem, mit dem Blutplasma in Verbindung tretenden Innenbereich, zumindest teilweise mit einem Detektionsreagenz, welches vorzugsweise Pico-Green™ oder SytoxGreen enthält oder daraus besteht, beschichtet. Weiter kann auch ein schnell lösliches Pellet, das ein Detektionsreagenz aufweist, im Bereich der Messkammer 3 oder der Fluidkanal 7 (respektive Teil 17) positioniert werden.

**[0090]** Vorzugsweise geht vom Messbereich 3 ein Kanal, vorzugsweise ein Lüftungskanal 13 ab. Ein solcher Kanal mündet vorzugsweise in einer Entlüftungsöffnung bzw. Entlüftungsaussparung oder Vertiefung 15, die vorzugsweise im Außenbereich der Vorrichtung angeordnet ist und mit einer semipermeablen Membran (nicht dargestellt) gegenüber der Umgebung abgedichtet ist. Eine derartige Membran weist vorzugsweise die Eigenschaft auf, dass sie von der Innenseite der Vorrichtung her gesehen für Luft bzw. gasförmige Medien durchlässig ist, nicht aber für flüssige Medien bzw. Blutplasma. Dementsprechend sind der Kanal und der Entlüftungsbereich 15 dazu ausgebildet, beim Befüllen des Filterbereichs 5 bzw. des Fluidkanals 7 und des Messbereichs 3 in der Vorrichtung 1 vorhandene überschüssige Luft nach außen in die Umgebung abzuführen, in anderen Worten, um die Vorrichtung 1 zu entlüften. Dies erlaubt vorteilhafter Weise insbesondere das Einbringen eines definierten Flüssigkeitsvolumens in den Messbereich.

**[0091]** Die erfindungsgemäße Vorrichtung 1 erlaubt somit das automatische Füllen des Messbereichs 3 mit einer definierten Menge an Blutplasma und das Mischen

mit einem Detektionsreagenz. Die Vorrichtung und das im Messbereich vorliegende Fluid, vorzugsweise Blutplasma, sind insbesondere einer photooptischen Erfassung zugänglich. Gemäß der obigen Beschreibung beispielsweise zum Zwecke der Erfassung freier DNA mittels eines interkalierenden Fluoreszenzfarbstoffes wie beispielsweise Pico-Green™.

**[0092]** Das Detektionsreagenz ist vorzugsweise auf die Innenseite der Messkammer 5 oder des Meßkanals aufgetragen, vorzugsweise via Tintenstrahl, und getrocknet. Alternativ oder zusätzlich wird das Detektionsreagenz als Staub oder Pellet in der Messkammer vorliegend oder beispielsweise innerhalb der Zuflussrinne als leicht lösliches Material vorgesehen. Die Vorrichtung weist vorzugsweise einen Durchmesser von etwa 10mm und eine Länge bzw. Höhe von etwa 50 mm +/- 15 mm auf.

**[0093]** Der Messbereich ist vorzugsweise zumindest teilweise durchsichtig bzw. durchscheinend ausgebildet, insbesondere um eine optische Erfassung des nachzuweisenden bzw. zu bestimmenden Bestandteils, vorzugsweise mittels einer Fluoreszenzmessung, zu gewährleisten.

**[0094]** Die vorangegangene Beschreibung, die insbesondere unter Bezug auf Figur 1 erfolgte, gilt entsprechend ebenfalls für die bevorzugten Ausführungsformen gemäß Figuren 2 bis 6 (bzw. 7). Hierbei zeigen die bevorzugten Ausführungsformen gemäß Figuren 2 bis 4 Vorrichtungen, die grundsätzlich hinsichtlich Aufbau und Funktionsweise der im Zusammenhang mit Figur 1 beschriebenen Vorrichtung entsprechen, die jedoch mehrere Messbereiche 3, und vorzugsweise 2 bzw. 3 Messbereiche aufweisen, wobei diese Messbereiche unterschiedlich angeordnet sein können. Betreffend den allgemeinen Aufbau und die Funktionsweise wird auf die obige Beschreibung von Figur 1 verwiesen. Bei der Ausbildung mit mehreren Messbereichen 3 ist lediglich darauf hinzuweisen, dass die unterschiedlichen Messbereiche bzw. die von dem gemeinsamen Filterbereich 5 abgehenden Fluidkanäle 7 und die in Fluidflussrichtung darauf folgenden Messbereiche 3, Lüftungskanäle 13 und Entlüftungsbereiche 15 dazu geeignet sind, mehrere parallele Messungen, bzw. Nachweise oder Bestimmungen durchzuführen, wobei jeder der Messbereiche 3 und/oder Fluidkanäle 7 das gleiche oder aber unterschiedliche Detektionsreagenzen aufweisen kann.

**[0095]** Die vorangegangene Beschreibung, die insbesondere unter Bezug auf Figur 1 erfolgte, gilt entsprechend ebenfalls für die bevorzugten Ausführungsformen gemäß Figuren 8-10. Hierbei zeigen die bevorzugten Ausführungsformen gemäß Figuren 8-10 Vorrichtungen, die grundsätzlich hinsichtlich Aufbau und Funktionsweise der im Zusammenhang mit Figur 1-7 beschriebenen Vorrichtung entsprechen,

**[0096]** Vorzugsweise ist mindestens einer der Messbereiche, auch als Leerwert-Messbereich bezeichnet, zur Bestimmung eines Leerwertes vorgesehen. Ein Leerwert oder Nullwert ist ein Wert, der zum Vergleich

der zu messenden Probe herangezogen wird. Beispielsweise kann als Leerwert gefiltertes Blutplasma ohne Reagenz in dem Leerwert-Messbereich gemessen werden, welches dann etwa eine Autofluoreszenz angibt. Ein Eichwert kann gebildet werden vorzugsweise mit der Messung eines Fluids der gleichen Art, welches mit standardisierten Mengen der zu messenden Substanz versetzt ist. Weiter bevorzugt kann ein Eichwert gebildet werden durch Messung einer Küvette, welche beispielsweise mit einer dem Blutplasma in optischer Hinsicht ähnlichen Flüssigkeit oder aber auch einem Kunststoff gefüllt ist/besteht und eine stabile definierte Fluoreszenz aufweist. Basierend auf diesen Werten wird der entsprechende Messwert der Probe(n) evaluiert. So kann man z. B. täglich eine Standardmessung vornehmen und vom Patienten jeweils einen Leerwert und einen Messwert des interessierenden Analyts vornehmen.

**[0097]** Die entsprechenden bevorzugten Ausführungsformen erlauben somit das gleichzeitige Durchführen paralleler, identischer Messungen oder aber paralleler unterschiedlicher Messungen. Wie bereits im Zusammenhang mit der bevorzugten Vorrichtung der Messfigur 1 beschrieben sind auch bei den bevorzugten Ausführungsformen wie in Figuren 2 bis 6 (bzw. 7) dargestellt, die Volumina von Messbereich 3, Filterbereich 5 und Fluidkanälen 7 sowie die Eigenschaften des Filterbereichs 5 hinsichtlich Elastizität und Druckaufbau sowie des Filters hinsichtlich der Filter- und Durchlassigenschaften derart aufeinander abgestimmt, dass in den Messkammern 3 bzw. in den Fluidkanälen 7 eine vorbestimmte Menge an Blutplasma vorhanden ist, die mit einer vorbestimmten Menge an Detektionsreagenz(ien) interagiert.

**[0098]** Figur 5 zeigt wiederum eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung mit einer Messkammer wobei lediglich beispielhaft ein veränderter, flussoptimierter Messbereich 3 (siehe Figur 5a, Figur 5) dargestellt ist. Hiermit soll verdeutlicht werden, dass die Geometrie des Messbereichs 3 nicht als einschränkend zu verstehen ist, sondern beliebige unterschiedliche Ausgestaltungen erfahren kann solange die beschriebene Funktionalität gewahrt ist.

**[0099]** Auch Figur 6 zeigt eine weitere bevorzugte Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung gemäß der einer Mischkammer 25, in der sich bevorzugt ein Reagenz befindet, das an den/die zu messenden Bestandteil(e) bindet, eine weitere Kammer 20 nachgeordnet ist. In dieser Kammer 20 ist ein Detektionsreagenz, z.B. ein Antikörper, fest an ein Substrat, welches vorzugsweise wenigstens teilweise Siliziumdioxid (z.B. Glas) oder Polystyrol oder Polyurethan enthält, gebunden. Ein zu messender Bestandteil, z.B. ein Antigen, verbindet sich dann im Filterbereich 5, Mischkammer 25 und/oder dem Kanal 7 mit einem ersten Detektionsreagenz, z.B. einem Fluoreszenz markierten Antikörper, und wird bei weiterem Fluss in der Kammer 20 durch einen weiteren an das Substrat gebundenen Antikörper an das Substrat fixiert und damit das Vorhandensein des Anti-

gens und/oder seine Konzentration durch eine Fluoreszenzphotometrische Messung der Kammer 20 bestimmt. Beide Detektionsreagenzien können hierbei an unterschiedlichen Bereichen des zu bestimmenden Bestandteiles, im Falle von Antikörpern an unterschiedliche Epitope des Antigens, binden.

**[0100]** Figur 7 zeigt eine schematische Ansicht einer bevorzugten erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einem scheibenförmig ausgeführten Filter 16. Fig. 7a zeigt dabei eine schematische Draufsicht auf die Vorrichtung und Fig. 7b eine schematische Ansicht der Vorrichtung gemäß Fig. 7a aus Sicht von oben in Fig. 7a. Die verbleibende dargestellte Anordnung entspricht den bereits beschriebenen.

**[0101]** Figur 8 zeigt eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung mit einer röhrenartigen Küvette 17, welche eine z. B. pelletierte, leicht lösliche Reagenz 23 enthalten kann. Auch diese erfindungsgemäße Vorrichtung erlaubt das automatische Füllen des Messbereichs mit einer definierten Menge an Blutplasma und das Mischen mit einem Detektionsreagenz. Hierbei ist vorteilhafterweise die Kombination der, bereits beschriebenen, Teile Messbereich 3, Fluidkanal 7, Entlüftungskanal 13 gemäß den in Figuren 1-6 dargestellten Ausführungsformen in das Teil 17 integriert bzw. in diesem angeordnet. Das Teil 17 ist vorzugsweise mit einer semipermeablen Membrane 15 als Verschluss versehen. Die Vorrichtung und das im Messbereich vorliegende Fluid, vorzugsweise Blutplasma, sind insbesondere einer photooptischen Erfassung zugänglich. Die röhren- bzw. schlauchartige, lichtdurchlässige Messküvette hat etwa eine Länge von 20mm, einen Innendurchmesser von etwa 1-4mm und einen Außendurchmesser von etwa 2-6 mm;

**[0102]** Figur 9 zeigt eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung in einer Variante mit zwei röhrenartigen Küvetten 17, bei der eine mit Detektionsreagenz versehen sein kann während mit der andere ohne Reagenz ein Blank- bzw. Leerwert gemessen werden kann,

**[0103]** Figur 10 zeigt eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung in einer Variante mit einer Mischkammer 20 die ein Reagenz enthalten kann, wobei sich das Reagenz in der Kammer 20 besonders vorteilhaft mit dem Filtrat mischt.

**[0104]** Figur 11 zeigt eine schematische Draufsicht auf eine bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsform einer Vorrichtung in einer Variante welche das automatische Füllen des Messbereichs mit einer definierten Menge mit zuvor durch übliche Methoden hergestelltes Blutplasmas erlaubt. Die röhren- bzw. schlauchartige Messküvette hat etwa eine Länge von 20mm und einen Außendurchmesser von etwa 2-6 mm und kann im Bereich 19 ein Reagenz enthalten.

**[0105]** Die vorliegende Erfindung stellt somit eine vorteilhafte Vorrichtung, Verfahren sowie ein Kit bereit, die die Nachteile des Standes der Technik überwinden. Ins-

besondere erlaubt die vorliegende Erfindung die Trennung von Plasma oder Serum von Vollblut und eine Analyse von im Serum oder Plasma befindlichen Stoffen durchzuführen, ohne dass Zentrifugationsschritte oder ähnliche labortechnische Verarbeitungsschritte des gewonnenen Serums oder Plasmas notwendig sind. Weiterhin stellt die vorliegende Erfindung eine Vorrichtung, ein Verfahren und ein Kit bereit, die einfach, sicher und zuverlässig zu handhaben bzw. durchzuführen sind, und sich insbesondere zur Verwendung bzw. Durchführung durch Laien bzw. nicht medizinisch geschultes Personal eignen sowie einfach und kostengünstig herzustellen, durchzuführen und/oder zu Lagern ist.

### Patentansprüche

1. Vorrichtung zum Nachweis, insbesondere zur Bestimmung der Konzentration, von Bestandteilen in Blut, aufweisend einen Messbereich, ein Filter sowie mindestens ein Detektionsreagenz zum Wechselwirken mit den Bestandteilen.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Vorrichtung eine Öffnung zum Einbringen eines Fluids aufweist, wobei das Filter zwischen Öffnung und Messbereich angeordnet ist.
3. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei die Vorrichtung ferner einen Fluideingangsbereich aufweist, der vorzugsweise zwischen der Öffnung und dem Messbereich, weiter bevorzugt zwischen Öffnung und Filter angeordnet ist.
4. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der nachzuweisende oder zu bestimmende Bestandteil eine in Organismen vorkommende Substanz ist.
5. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der nachzuweisende oder zu bestimmende Bestandteil ein biologisches Molekül ist, ausgewählt aus der Gruppe umfassend DNA, RNA, Proteine, Hormone, Cytokine.
6. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der nachzuweisende oder zu bestimmende Bestandteil ein Arzneistoff ist.
7. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Vorhandensein und/oder die Konzentration des Bestandteils im Messbereich mittels Lumineszenz, Fluoreszenz, Autofluoreszenz, Chemilumineszenz, Elektrochemilumineszenz, spektrale Absorptionsphotometrie und/oder Biolumineszenz bestimmbar ist.
8. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Filter ausgebildet ist, feste Bestandteile des das Filter durchfließenden Blutes abzutrennen, und insbesondere die feste und flüssige Phase des Blutes voneinander zu trennen.
9. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Fluideingangsbereich ausgebildet ist, dass ein über Umgebungsdruck liegender Druck auf das Blut ausgeübt wird.
10. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Vorrichtung derart ausgebildet ist, dass das Blut unter Druck durch das Filter in den Messbereich eingebracht wird.
11. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei in der Vorrichtung ein unter dem Umgebungsdruck liegender Druck herrscht.
12. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Detektionsreagenz im Messbereich vorgesehen ist.
13. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Detektionsreagenz direkt oder indirekt mit dem Bestandteil interagiert.
14. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Detektionsreagenz seine optischen Eigenschaften bei Interaktion mit dem zu bestimmenden Bestandteil ändert.
15. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Detektionsreagenz ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend Pico-Green™, Pico-Green™, Alexa-Farbstoffen, Ethidiumbromid und SYBR® oder Sytox®-Farbstoffe.
16. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Öffnung ein Ein-Wege-Ventil aufweist.
17. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Öffnung ein Luer-Lock aufweist.
18. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Fluideingangsbereich durch eine, vorzugsweise elastische, Folie ausgebildet bzw. abgegrenzt ist.
19. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Vorrichtung eine Ein-Weg-Vorrichtung ist.
20. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Filter ausgebildet ist, Serum oder Plasma vom Blut abzutrennen.

21. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Vorrichtung mit handelsüblichen Detektorvorrichtungen kompatibel ist.
22. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Vorrichtung die Maße einer handelsüblichen Küvette oder eines sonstigen handelsüblichen Messgefäßes aufweist und vorzugsweise einen Durchmesser von etwa 10mm und/oder eine Länge von etwa 50mm +/- 15 mm aufweist oder mittels eines Adapters an die Größe einer handelsüblichen Küvette angepasst wird.
23. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Vorrichtung mindestens eine Entlüftungseinrichtung aufweist.
24. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Entlüftungseinrichtung mit der Messkammer durch eine schmale Rinne oder einen Spalt verbunden ist.
25. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Messbereich der Vorrichtung in Form eines Röhrchens, vorzugsweise mit einer Entlüftungseinrichtung vorliegt.
26. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Vorrichtung mindestens einen zweiten Messbereich aufweist.
27. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Vorrichtung mindestens einen Bereich zur Bereitstellung eines Leer- bzw. Eichwerts aufweist.
28. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der zu bestimmende Bestandteil mit zwei Detektionsreagenzien interagiert.
29. Vorrichtung nach Anspruch 28, wobei sich das erste Detektionsreagenz in der Vorrichtung vor dem Messbereich befindet.
30. Vorrichtung nach Anspruch 28 oder 29, wobei das zweite Detektionsreagenz an einen bestimmten Bereich im Messbereich immobilisiert ist.
31. Verfahren zum Nachweis, insbesondere zur Bestimmung der Konzentration, von Bestandteilen in Blut, vorzugsweise unter Verwendung einer Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, aufweisend die Schritte Bereitstellen einer Vorrichtung mit einem Messbereich und einem Detektionsreagenz, Einbringen von Blut in die Vorrichtung, und Nachweisen des bzw. Messen der Konzentration des Bestandteils unter Verwendung der Vorrichtung.
32. Verfahren nach Anspruch 31, wobei das Blut mittels einer Spritze in die Vorrichtung eingebracht wird, wobei vorzugsweise der zum Filtrieren erforderliche Druck aufgebracht wird.
33. Verwendung einer Vorrichtung bzw. eines Verfahrens nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Bestimmung von Bestandteilen in Blut.
34. Kit, umfassend die Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 30, und einen Fluoreszenz Standard.
35. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der nachzuweisende oder zu bestimmende Bestandteil ein Protein ist.

Fig. 1

Fig. 1a

Fig. 1b

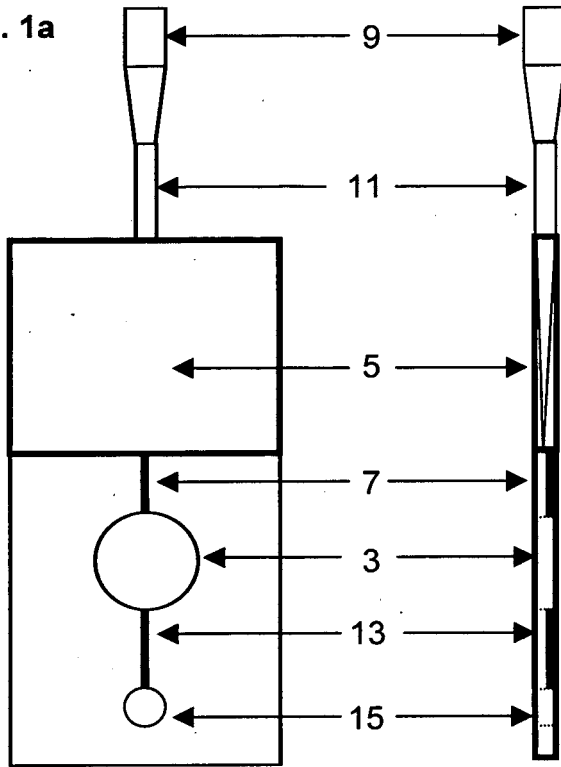


Fig. 2

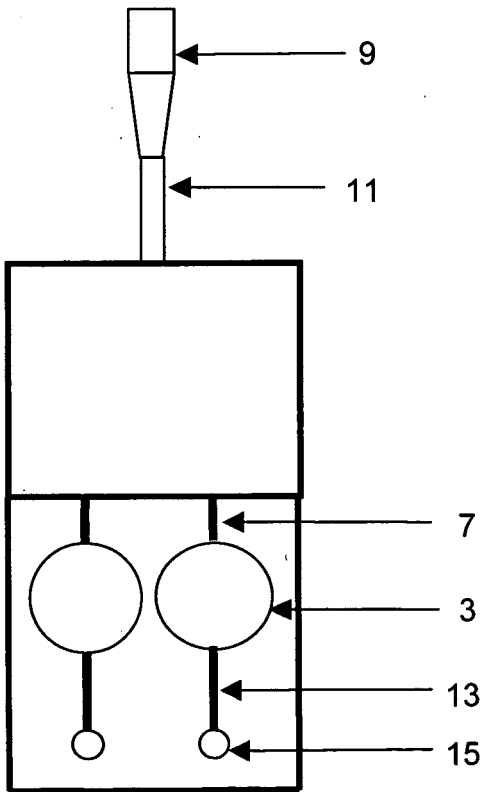


Fig. 3

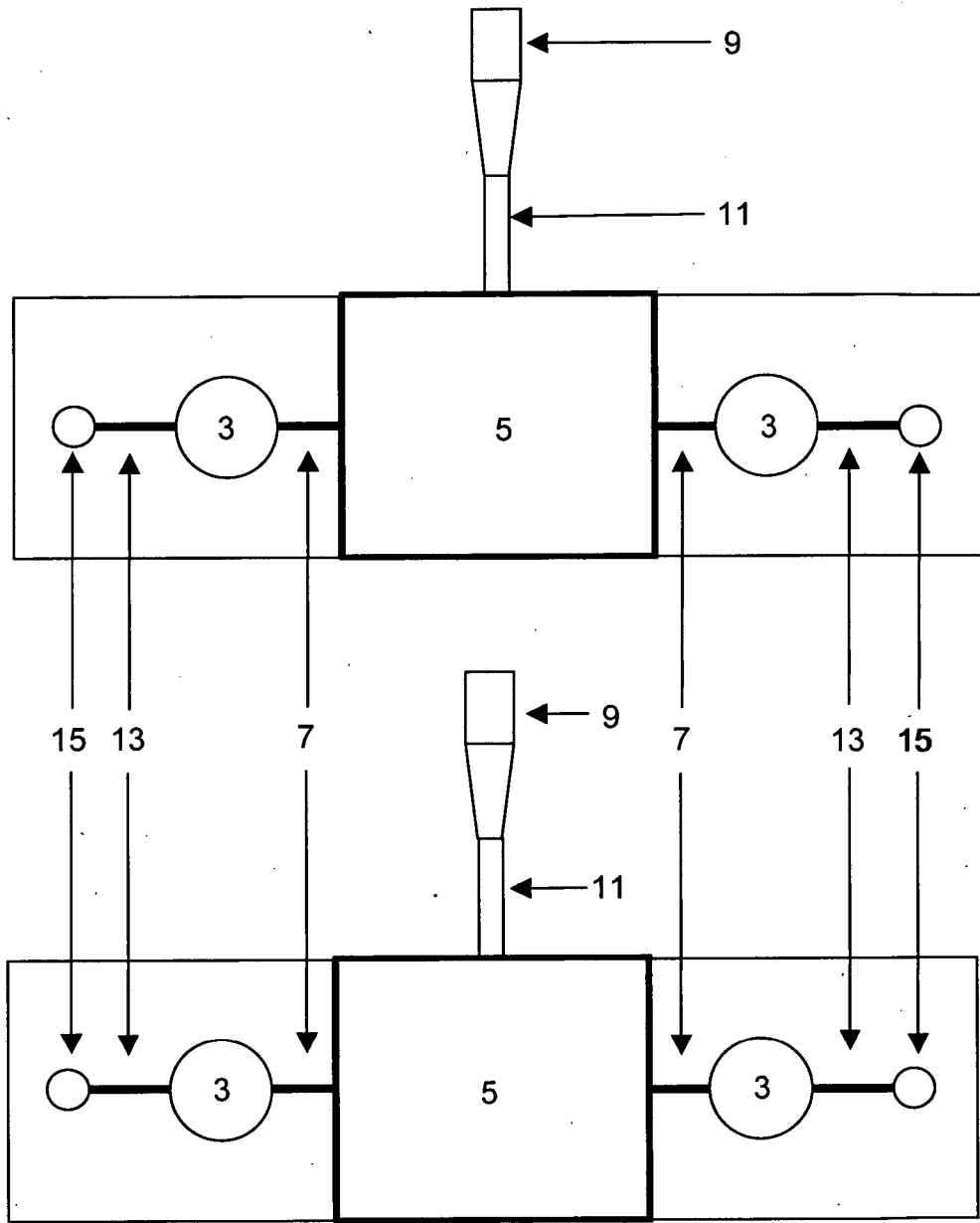


Fig. 4

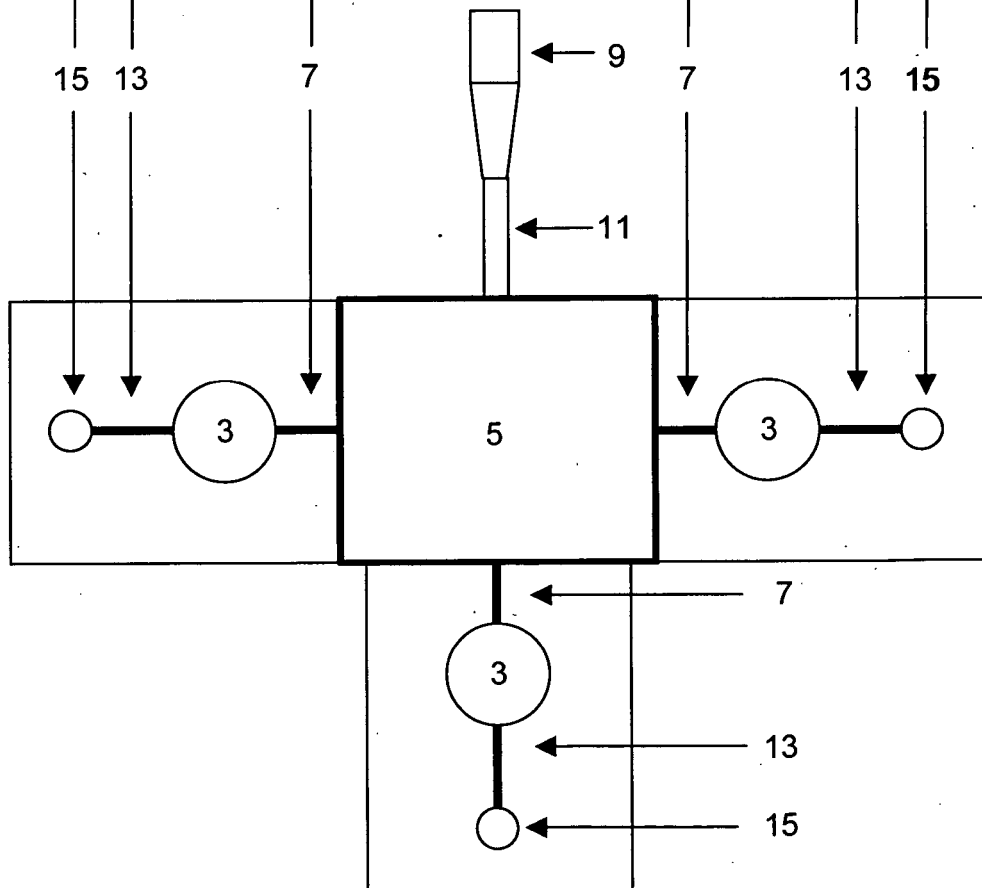




Fig. 5 a

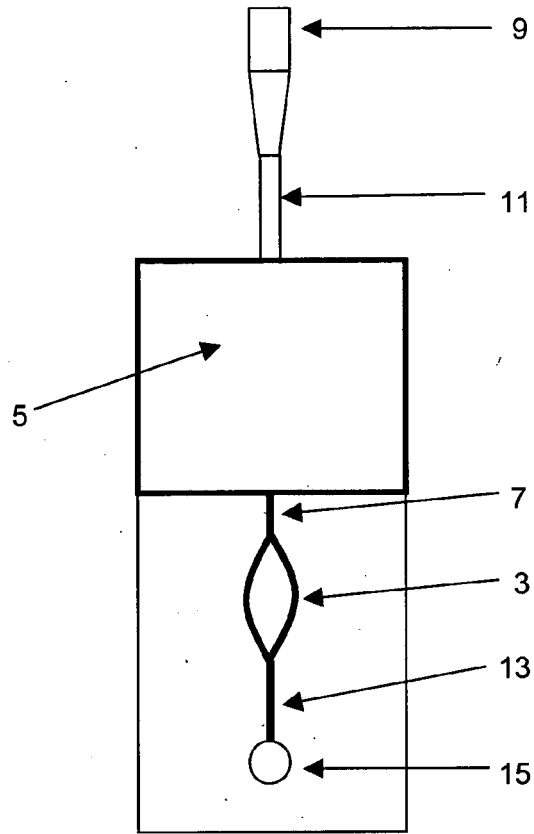


Fig. 5 b

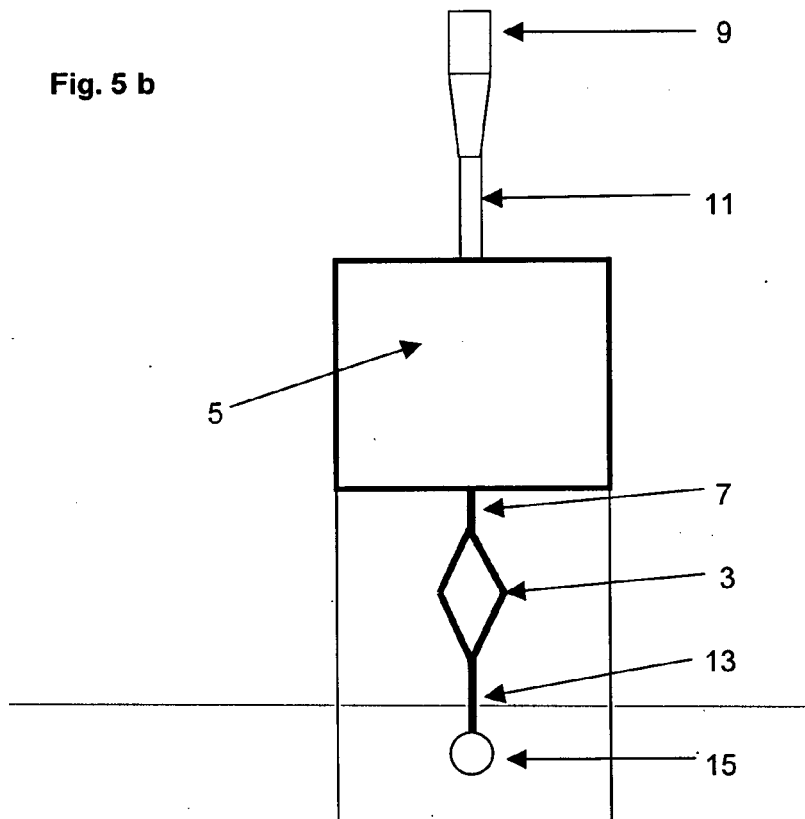


Fig. 6

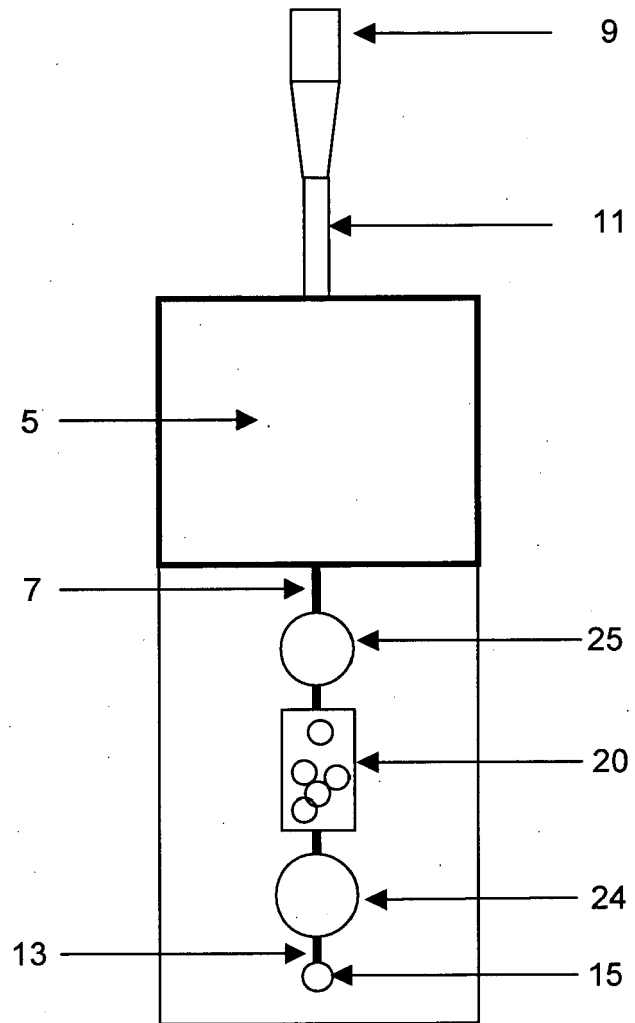


Fig. 7

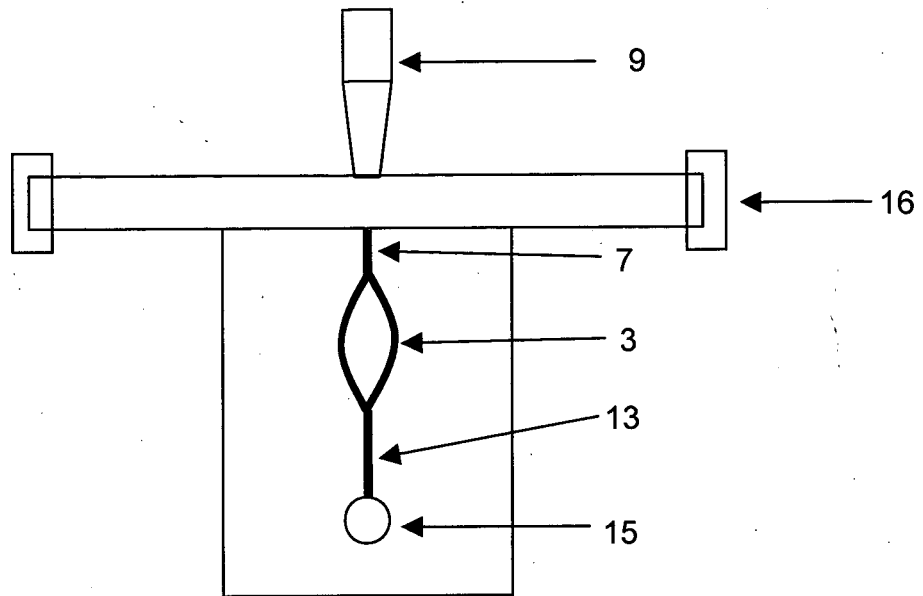


Fig. 7 a

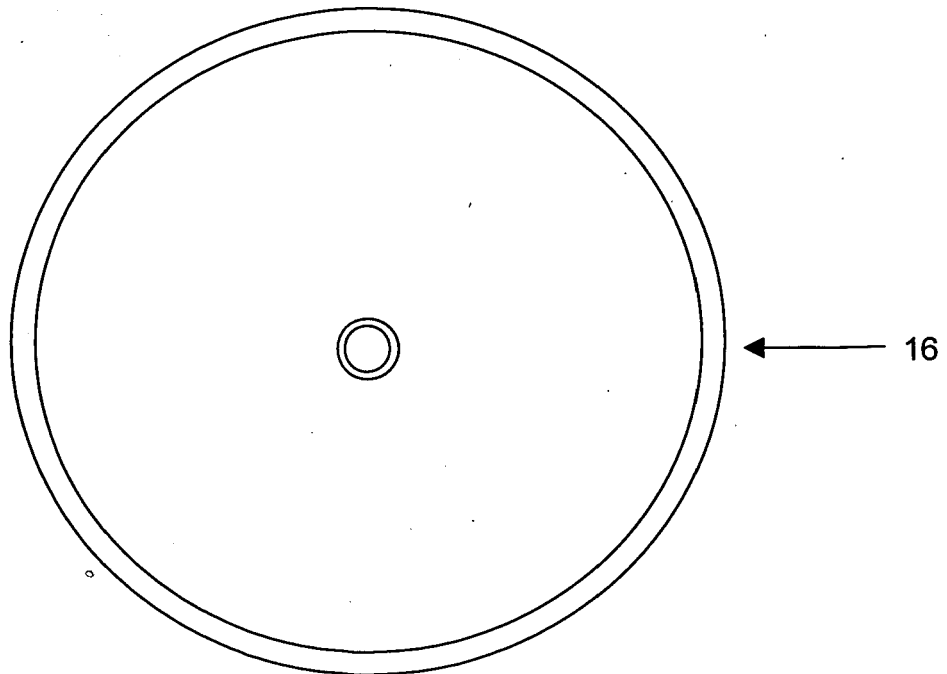


Fig. 7 b

Fig. 8

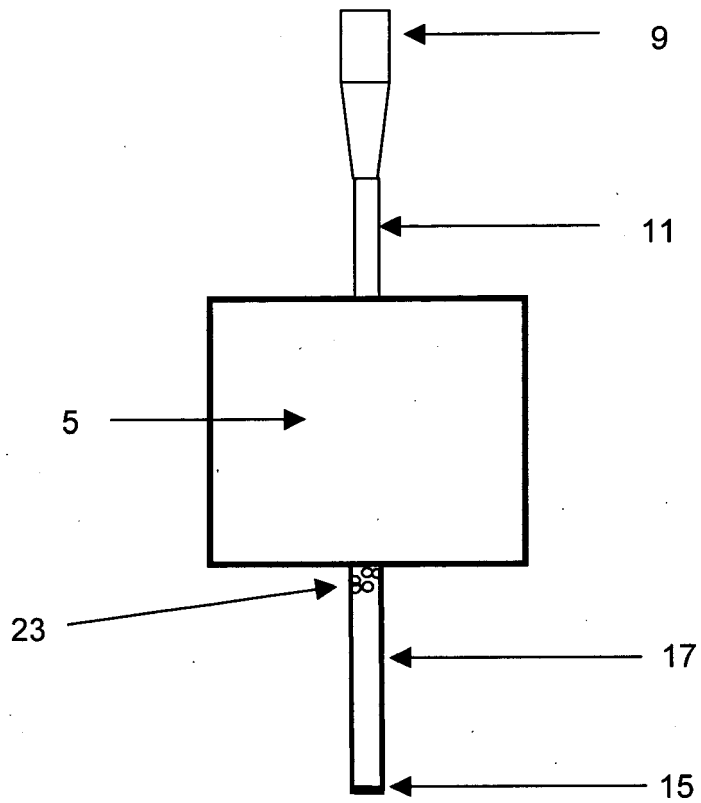


Fig. 9

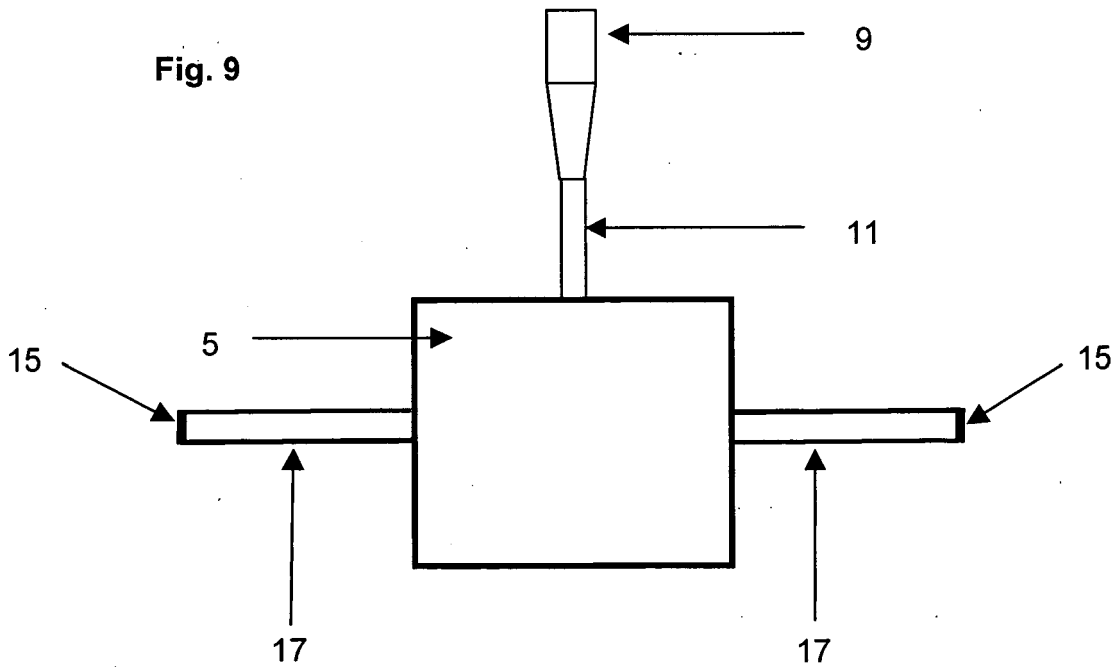


Fig.10

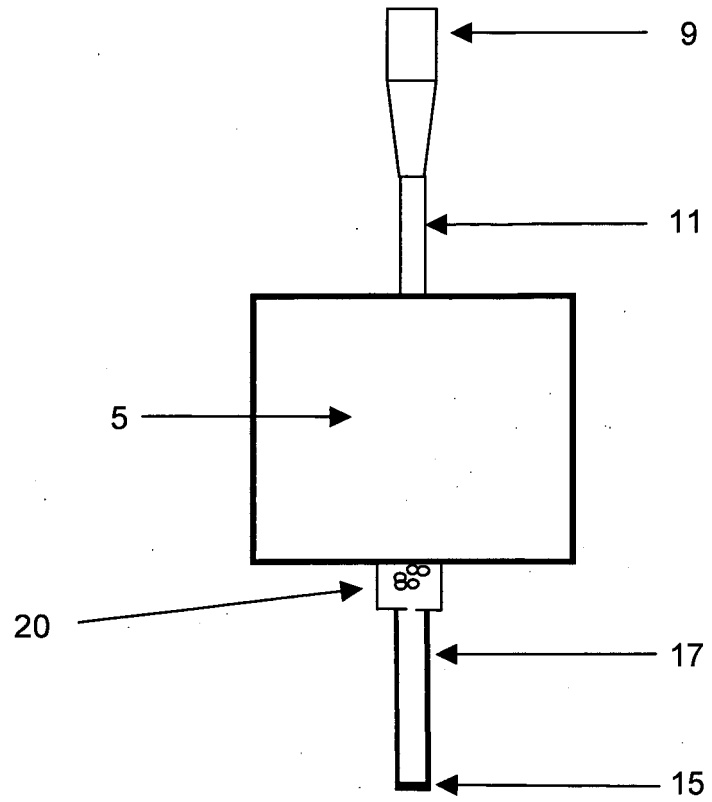
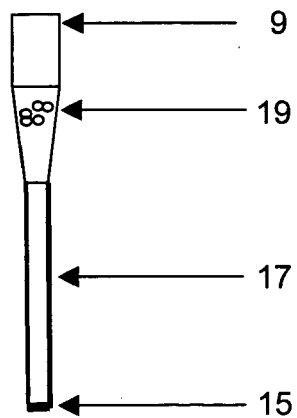


Fig. 11





EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	EP 0 974 840 A (LIFESCAN INC [US]) 26. Januar 2000 (2000-01-26)  * Absätze [0002], [0032] - [0034]; Abbildungen 1,2 * * Absätze [0035] - [0038], [0042], [0048], [0049] * -----	1,4-8, 12-15, 19-22, 26-35	INV. B01L3/00 G01N33/50
X	WO 96/00614 A (YASSINZADEH ZIA [US]; LINGANE PAUL J [US]) 11. Januar 1996 (1996-01-11)  * Seite 15, Zeile 37 - Seite 17, Zeile 31; Abbildungen 11,12 * * Seiten 1-4 * * Seiten 6-7 *	1-8, 12-15, 19-22, 26-35	
X	US 2007/031283 A1 (DAVIS CHARLES Q [US] ET AL) 8. Februar 2007 (2007-02-08) * Absätze [0005] - [0012] * * Absätze [0126] - [0130] * * Absätze [0156] - [0161] * * Absätze [0225] - [0258] * * Absätze [0277] - [0280] * * Absätze [0303] - [0315], [0339] - [0341]; Abbildung 21 * -----	1-35	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)  B01L G01N
X	US 2006/228259 A1 (SAMSOONDAR JAMES [CA]) 12. Oktober 2006 (2006-10-12) * Absätze [0003] - [0014] * * Absätze [0127] - [0134] * * Absätze [0143] - [0149] * * Abbildungen 1,14 * -----  -/--	1,9,10, 17,23-25	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
5	Recherchenort <b>Den Haag</b>	Abschlußdatum der Recherche <b>19. Juni 2008</b>	Prüfer <b>Tiede, Ralph</b>
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 : nichtschriftliche 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)



EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	WO 2006/009724 A (MICRONICS INC [US]; SALTSMAN PATRICK [US]; SHEN MINGCHAO [US]; HOUKAL) 26. Januar 2006 (2006-01-26) * Seite 3 * * Seite 8, Zeile 26 - Seite 9, Zeile 16 * * Seite 15, Zeilen 7-24 * -----	1,11,23	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort <b>Den Haag</b>		Abschlußdatum der Recherche <b>19. Juni 2008</b>	
		Prüfer <b>Tiede, Ralph</b>	
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	

5

EPO FORM 1503 03.02 (P04C03)



### GEBÜHRENPFLICHTIGE PATENTANSPRÜCHE

Die vorliegende europäische Patentanmeldung enthielt bei ihrer Einreichung mehr als zehn Patentansprüche.

- Nur ein Teil der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die ersten zehn sowie für jene Patentansprüche erstellt, für die Anspruchsgebühren entrichtet wurden, nämlich Patentansprüche:
- Keine der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die ersten zehn Patentansprüche erstellt.

### MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

Siehe Ergänzungsblatt B

- Alle weiteren Recherchegebühren wurden innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.
- Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Recherchenabteilung nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
- Nur ein Teil der weiteren Recherchegebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf Erfindungen beziehen, für die Recherchegebühren entrichtet worden sind, nämlich Patentansprüche:
- Keine der weiteren Recherchegebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf die zuerst in den Patentansprüchen erwähnte Erfindung beziehen, nämlich Patentansprüche:
- Der vorliegende ergänzende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf die zuerst in den Patentansprüchen erwähnte Erfindung beziehen (Regel 164 (1) EPÜ).





Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

1. Ansprüche: 1(teilw.), 2, 3, 8, 19-22, 31-35(teilw.)

Eine Vorrichtung und Verfahren zu deren Verwendung zum Nachweis von Bestandteilen im Blut, aufweisend einen Messbereich, ein Filter sowie mindestens ein Detektionsreagenz zum Wechselwirken mit den Bestandteilen. Mit weiteren Details zu besagten Filter

1.1. Ansprüche: 1(teilw.) 4-7, 12-15, 26-30, 31-35(teilw.)

Eine Vorrichtung und Verfahren zu deren Verwendung zum Nachweis von Bestandteilen im Blut, aufweisend einen Messbereich, ein Filter sowie mindestens ein Detektionsreagenz zum Wechselwirken mit den Bestandteilen. Mit weiteren Details zum Detektionsreagenz, bzw. -verfahren

---

2. Ansprüche: 1(teilw.), 9-11, 23-25, 31-35(teilw.)

Eine Vorrichtung und Verfahren zu deren Verwendung zum Nachweis von Bestandteilen im Blut, aufweisend einen Messbereich, ein Filter sowie mindestens ein Detektionsreagenz zum Wechselwirken mit den Bestandteilen. Mit weiteren Details zu Mitteln zum Fluidtransport durch Druckdifferenzen bzw. Entlüften in der Vorrichtung

---

3. Ansprüche: 1(teilw.), 16-18, 31-35(teilw.)

Eine Vorrichtung und Verfahren zu deren Verwendung zum Nachweis von Bestandteilen im Blut, aufweisend einen Messbereich, ein Filter sowie mindestens ein Detektionsreagenz zum Wechselwirken mit den Bestandteilen. Mit weiteren Details zum Probeneinlass

---

Bitte zu beachten dass für alle unter Punkt 1 aufgeführten Erfindungen, obwohl diese nicht unbedingt durch ein gemeinsames erfinderisches Konzept verbunden sind, ohne Mehraufwand der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, eine vollständige Recherche durchgeführt werden konnte.

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

EP 07 02 1342

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.

19-06-2008

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0974840	A	26-01-2000	AT 229649 T 15-12-2002
			CA 2277639 A1 20-01-2000
			CN 1250160 A 12-04-2000
			DE 69904403 D1 23-01-2003
			DE 69904403 T2 30-10-2003
			DK 974840 T3 31-03-2003
			ES 2189353 T3 01-07-2003
			IL 130807 A 23-11-2003
			JP 2000055911 A 25-02-2000
			KR 20000011826 A 25-02-2000
			NO 993536 A 21-01-2000
			TW 411268 B 11-11-2000
			US 2002064480 A1 30-05-2002
			US 2002110922 A1 15-08-2002
			US 2002110486 A1 15-08-2002
			US 2003031594 A1 13-02-2003
			US 2003156983 A1 21-08-2003
			US 2003156984 A1 21-08-2003
US 6521182 B1 18-02-2003			
-----			
WO 9600614	A	11-01-1996	AU 2955395 A 25-01-1996
			EP 0767705 A1 16-04-1997
			US 5700695 A 23-12-1997
-----			
US 2007031283	A1	08-02-2007	KEINE
-----			
US 2006228259	A1	12-10-2006	KEINE
-----			
WO 2006009724	A	26-01-2006	EP 1773481 A2 18-04-2007
			JP 2008503722 T 07-02-2008
-----			

EPO FORM P0461

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

**IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE**

*Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.*

**In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente**

- US 5186843 A [0005] [0020]
- US 4816224 A [0006] [0020]
- US 20060029923 A [0007] [0020]
- US 60827571 B [0039]