

19



Octrooicentrum
Nederland

11 1027737

12 C OCTROOI²⁰

21 Aanvraag om octrooi: 1027737

51 Int.Cl.:
G01N33/558 (2006.01) G01N33/80 (2006.01)

22 Ingediend: 14.12.2004

41 Ingeschreven:
16.06.2006 I.E. 2006/08

73 Octrooihouder(s):
Teststrip B.V. te Oud-Beijerland.

47 Dagtekening:
16.06.2006

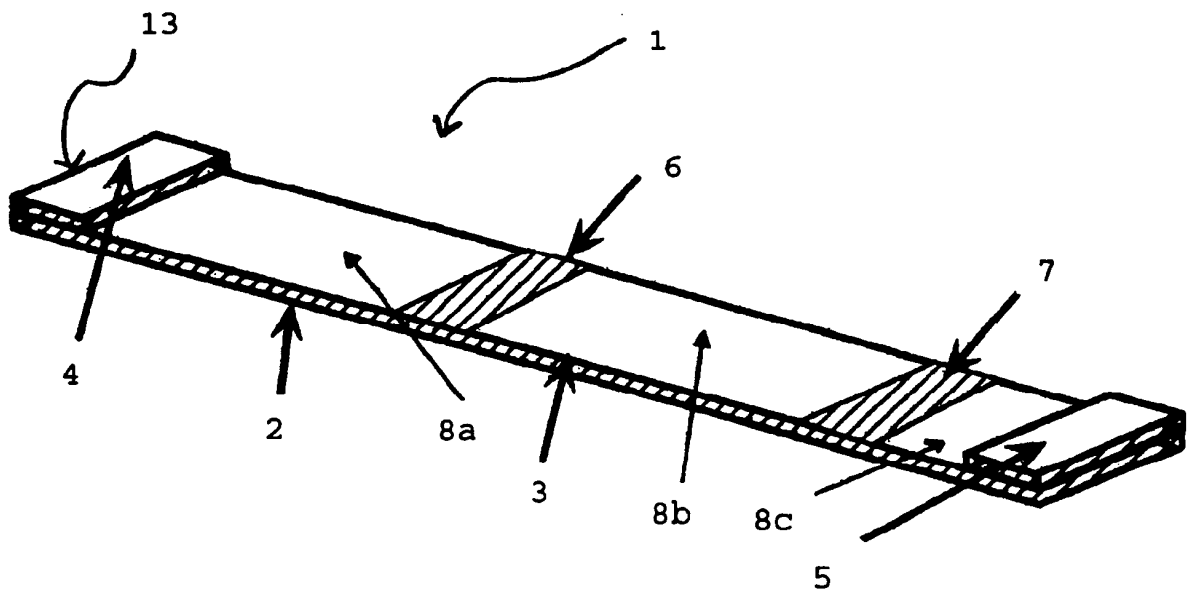
72 Uitvinder(s):
Johannes Robertus van Herwijnen te
Linschoten.

45 Uitgegeven:
01.08.2006 I.E. 2006/08

74 Gemachtigde:
Dr. O. Griebing te 5037 AC Tilburg.

54 Chromatografische analyse-inrichting en test kit.

57 Beschreven is een chromatografische analyse-inrichting (1) voor de detectie van celcomponenten van in bloed van humane of dierlijke oorsprong circulerende cellen, in een monster van een dergelijke cellen bevattende lichaamsvloeistof, die een stripvormig chromatografisch medium (3), dat een monsteropbrengzone (4), een afzuigzone (5), en tenminste een detectie-zone (6, 7) bezit, omvat, waarbij opbrengzone, afzuigzone en detectiezone onderling van elkaar zijn gescheiden door tenminste een scheidingszone (8a, 8b, 8c), die elk is (zijn) voorzien van een lysis van de circulerende cellen verhinderend materiaal.



NL C 1027737

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Octrooicentrum Nederland is het Bureau voor de Industriële Eigendom, een agentschap van het ministerie van Economische Zaken

Titel: Chromatografische analyse-inrichting en test kit

De uitvinding heeft betrekking op een chromatografische analyse-inrichting voor de detectie van celcomponenten van in bloed van humane of dierlijke oorsprong circulerende cellen, in een monster van een dergelijke cellen bevattende lichaams-
5 vloeistof, omvattende een stripvormig chromatografisch medium dat een monster-opbrengzone, een afzuigzone, en tenminste één detectiezone bezit, waarbij opbrengzone, afzuigzone en detectiezone(s) onderling steeds van elkaar zijn gescheiden door ten minste een scheidingszone.

10 Een dergelijke analyse-inrichting wordt toegepast voor de snelle diagnose of therapeutische controle van een aantal aandoeningen. Het chromatografische medium is daarbij meer in het bijzonder een zogenaamd dunne-laag systeem, waarbij een vloeistof die de te analyseren lichaamsvloeistof bevat,
15 tijdens het uitvoeren van de test, over het absorberende medium loopt.

In het geval van celcomponenten van erythrocyten vond de detectie gewoonlijk plaats op basis van agglutinatie. Een dergelijke bepaling bleek echter tamelijk onnauwkeurig vanwege
20 de in het erythrocyten bevattende monster aanwezige verontreinigingen. Aangezien voor een analyse gewoonlijk slechts een hoeveelheid van 3 - 5 µl van het te analyseren monster wordt toegepast, is een grote detectiegevoeligheid van de analyse-inrichting van groot belang. Daarnaast is er een
25 toenemende behoefte om, op eenvoudige wijze, direct, dat wil zeggen binnen enkele seconden, erythrocyten van humane of dierlijke oorsprong te kunnen detecteren, om aldus de bloedgroep te kunnen vaststellen. Een dergelijke bepaling is, vooral op humaan gebied, van belang bij bloedtransfusies. Op
30 veterinaire gebied is het bepalen van de bloedgroep tevens van belang, zoals bijvoorbeeld bij katten, waar het het optreden van het "Feline Neonatale Erythrolyse Syndroom" (door de bepaling van de bloedgroepen van eventuele ouders) kan helpen voorkomen. Dit syndroom wordt namelijk veroorzaakt door niet-

1027737

overeenkomende bloedgroepen bij katten, en heeft lysis van de rode bloedcellen van de kat direct na de geboorte tot gevolg. Overigens kan tijdens of na een bloedtransfusie een zogenaamde hemolytische transfusiëreactie optreden, waarbij ook lysis van
5 de rode bloedcellen optreedt ten gevolge van incompatibele bloedgroepen.

Gevonden is nu een chromatografische analyse-inrichting voor de detectie van celcomponenten van in bloed circulerende cellen van humane of dierlijke oorsprong, die een snelle
10 detectie mogelijk maakt, en bovendien een grote gevoeligheid bezit.

Meer in het bijzonder is gevonden dat wanneer lysis van dergelijke cellen wordt voorkomen, dit een snelle en betrouwbare test mogelijk maakt.

15 De chromatografische analyse-inrichting van het in de aanhef genoemde type wordt derhalve hierdoor gekenmerkt dat de scheidingszone(s) is (zijn) voorzien van een lysis van celcomponenten van in bloed circulerende cellen verhinderend materiaal.

20 In een voorkeursuitvoeringsvorm bestaat het lysis van de celcomponenten verhinderende materiaal uit een dispergeermiddel, in het bijzonder een poloxameer.

Volgens een andere voorkeursuitvoeringsvorm bestaat het de lysis van celcomponenten verhinderende materiaal uit een
25 celcomponenten-aggregerend materiaal, in het bijzonder een koolhydraat, zoals bijvoorbeeld lactose.

Het met de onderhavige inrichting te analyseren testmonster is in het bijzonder volledig bloed, bij voorkeur erythrocyten. Het kan echter ook worden toegepast voor de
30 analyse van andere lichaamsvloeistoffen die bloedcellen bevatten of kunnen bevatten, zoals urine, cerebrospinale vloeistof e.d.

De uitvinding wordt hierna toegelicht met de detectie van celcomponenten van erythrocyten (=rode bloedcellen). De
35 uitvinding is daartoe echter niet beperkt. Ook andere cellen die in de circulatie terecht zijn gekomen, kunnen worden gedetecteerd. De selectie vindt ook dan plaats op basis van celoppervlaktemarkers, zoals bijvoorbeeld adhesiemoleculen (EP-CAM, N-CAM (=CD56), andere CD markers (I-CAM, PECAM, H-

CAM), DAF, Fibronectinereceptor, Lamininereceptor, etc.), maar ook andere celoppervlakte moleculen zoals bijvoorbeeld mucines (MUC1, MUC2, MUC3, etc.), bepaalde CD markers, tumor markers (CEA, CA15.3, CA125, CA19.9, AFP, PSA, BRCA1, BRCA2, enz.), groei- dan wel groeiremmingsfactorreceptoren (TGF, EGF, TNF, INF, FGF, "Insulin like growfactor", enz.), antilichamen (myelomas), MHC moleculen, bepaalde virale celoppervlakte-antigenen (Griepvirussen, SARS, HIV, HPV, EBV), specifieke glycosyleringspatronen (T, Tn, Sialyl-Tn, etc.), T- cel receptors voorkomende en tot expressie komende op lymfoide cellen na infectie of contact met infectieuze organismen zoals virussen (SARS, HPV, EBV etc) of bacteriële organismen (TBC, Toxoplasma, E. cuniculi etc) of parasitaire organismen (Leishmania, Schistosomia, malaria etc), verder intracellulaire elementen die bij beschadiging van de cel aantoonbaar worden zoals intermediaire filamenten (keratines, zoals bijvoorbeeld keratine 19), vimentine, desmine, neurofilamenten, "glial fibrillaric acid") die, alle met behulp van monoclonale/polyclonale antistoffen, dan wel lectines, worden geselecteerd en gedetecteerd.

Van belang in de onderhavige uitvinding is het derhalve dat de te detecteren cellen intact blijven tijdens de detectie zelf; alleen een oppervlakte-eigenschap van de cel wordt voor de detectie benut.

Erythrocyten of rode bloedcellen bezitten een buitenmembraan dat koolhydraatgroepen bevat. Deze koolhydraten ofwel suikergroepen zijn specifiek voor de immunologische eigenschappen van de betreffende rode bloedcel, en vormen de basis van de indeling van rode bloedcellen binnen een bloedgroepensysteem.

Doordat de rode bloedcel gedurende de test intact wordt gelaten is het mogelijk om, door een geschikte keuze van reagentia in de detectiezone(s), binding van de diverse celcomponenten rechtstreeks zichtbaar te maken.

Volgens een voorkeursuitvoeringsvorm is daartoe de detectiezone van de chromatografische analyse-inrichting volgens de uitvinding voorzien van een lectine of een anti-bloedcel antilichaam bevattend materiaal.

Dankzij het feit dat de erythrocyten intact worden gelaten, kunnen zij zelf als indicator worden gebruikt in de detectiezone.

5 Opgemerkt wordt dat lectines bestaan uit proteïnen die specifiek en niet-covalent binden aan suikergroepen die aanwezig zijn op het oppervlak van bloedcellen.

Hoewel er veel verschillende soorten lectines bestaan, is het in de detectiezone van de onderhavige analyse-inrichting aanwezige lectine bij voorkeur bloedcelgroep specifiek.

10 Voorbeelden daarvan zijn concanavoline A, *Helix aspersa* lectine, *Gambucus nigra* lectine en *Triticum vulgare* lectine.

Opgemerkt wordt dat het lectine of het anti-bloedcel antilichaam niet-covalent kan zijn gebonden aan het chromatografische medium, dan wel covalent daaraan kan zijn verknoopt.
15 Dergelijke procedures zijn in de techniek algemeen bekend.

Overigens kan het voor het chromatografische medium toegepaste materiaal bestaan uit een al dan niet geweven weefsel, papier, cellulose, glasvezel, polyester of een ander polymeermateriaal, of een combinatie daarvan.

20 Ter versterking van het detecterende vermogen van de detectiezone is deze zone bij voorkeur voorzien van een zout met een tweewaardig overgangsmetaal. Chloriden van calcium en mangaan bleken hiervoor uitstekende effecten te verschaffen, in het bijzonder in aanwezigheid van een lectine.

25 De uitvinding heeft voorts betrekking op een test kit, die een chromatografische inrichting zoals hierboven omschreven, een monsterhouder voorzien van een erythrocyten stabiliserende oplossing en desgewenst een houder met verdunningsvloeistof, omvat.

30 Voorkeursuitvoeringsvormen van de onderhavige test kit zijn weergegeven in de conclusies 9 - 14.

De uitvinding zal hierna nader worden toegelicht aan de hand van bijgaande tekening, waarin

35 figuur 1 schematisch de opbouw van een analyse-inrichting volgens de uitvinding toont, en

figuur 2 schematisch een bovenaanzicht van een houder waarin een analyse-inrichting volgens de uitvinding is opgenomen, toont.

In figuur 1 is schematisch een chromatografische analyse-inrichting (1) voor de detectie van celcomponenten van erythrocyten van humane of dierlijke oorsprong weergegeven. De detectie-inrichting (1) bestaat meer in het bijzonder uit een langwerpige vlakke strook (3) van materiaal dat geschikt is als medium voor dunne-laag chromatografie, zoals nitrocellulose, cellulose-acetaat, nylon, rayon, polyester of papier, in het bijzonder een polyester. Om verlies van testmateriaal tijdens een test te voorkomen en ter ondersteuning, is de detectie-inrichting (1) bij voorkeur voorzien van een voor vloeistof ondoordringbare ruglaag (2) op de achterzijde van de inrichting. Deze ruglaag (2) kan bestaan uit bijvoorbeeld polystyreen met een lijmachtige tussenlaag.

De uiteinden van de strookvormige testinrichting (1) zijn voorzien van een opbrengzone (4) respectievelijk afzuigzone (5). Beide zones kunnen zijn gevormd uit elk absorberend materiaal, dat gewoonlijk voor dit doel wordt toegepast, zoals bijvoorbeeld filterpapier. De grootte en vorm van de zones wordt gekozen, afhankelijk van het volume van de in de analyse toegepaste vloeistof.

Zoals bekend is, wordt in een chromatografische testinrichting, vloeistof door capillaire werking aangezogen. Voor het verkrijgen van een goed reproduceerbaar testresultaat is het doelmatig gebleken om de opbrengzone (4) te voorzien van stromingsvertragende middelen, bijvoorbeeld in de vorm van kanalen die zich in hoofdzaak dwars op de langsrichting van de testinrichting (1) bevinden. Het materiaal van de opbrengzone (4) en afzuigzone (5) kan hetzelfde zijn als van strook (3). Bij voorkeur bestaan opbrengzone en afzuigzone uit een verdikt gedeelte van strook (3); dit is echter niet vereist.

Opgemerkt wordt dat de testinrichting bijvoorbeeld een lengte van 3 - 8 cm, en een breedte van 2 - 8,5 mm kan bezitten; het zal echter duidelijk zijn dat andere afmetingen eveneens kunnen worden toegepast.

Om met de testinrichting (1), celcomponenten van erythrocyten te kunnen detecteren is de inrichting voorzien van één of meer detectiezones (6, 7), die elk een voor een bepaalde celcomponent specifiek detectiemiddel bevatten. Dit detectie-

middel is volgens op zichzelf bekende wijze aangebracht, zoals door impregneren, drukken of vernevelen van een oplossing van het detectiemiddel in een geschikt oplosmiddel, zoals water, gevolgd door verwijdering van het oplosmiddel.

5 Het detectiemiddel voor de detectie van celcomponenten van erythrocyten is in het bijzonder een lectine of een anti-bloedcel antilichaam.

Lectines zijn proteïnen die worden geproduceerd door planten en enkele dieren, en binden specifiek en niet-covalent
10 aan suikergroepen, zoals die ook aanwezig zijn op het oppervlak van bloedcellen.

Het lectine is in het bijzonder, doch niet daartoe beperkt: concanavoline A, abrine, limuline, of één van de lectines die worden geproduceerd door *Agaricus bisporus*,
15 *Anguilla anguilla*, *Arachis hypogaea*, *Bandeiraea simplicifolia*, *Bauhinia purpurea*, *Caragana arborescens*, *Cicer arietinum*, *Codium fragile*, *Datura stramonium*, *Dolichos biflorus*, *Erythrina corallodendron*, *Erythrina cristagalli*, *Euonymus europaeus*, *Glycine max*, *Helix aspersa*, *Helix pomatia*, *Lathyrus odoratus*,
20 *Lens culinaris*, *Licopersicon esculentum*, *Maclura pomifera*, *Momordica charantia*, *Micoplasma gallisepticum*, *Naja mocambique*, *Naja kaouthia*, *Perseun americana*, *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus limesis*, *Phaseolus vulgaris*, *Phytolacca americana*, *Pisum sativum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Psophocarpus tetragonolobus*,
25 *Ptilota plumosa*, *Ricinus communis*, *Robinia pseudoacacia*, *Sambucus nigra*, *Solanum tuberosum*, *Sophora japonica*, *Tetragonolobus purpureas*, *Triticum vulgare*, *Ulex europaeus*, *Vicia faba*, *Vicia sativa*, *Vicia villosa*, *Vigna radiata*, *Viscum album* en *Wisteria floribunda*.

30 In het geval van de bloedgroepbepaling van katten wordt het lectine bij voorkeur gekozen uit concanavoline A, of het lectine dat wordt geproduceerd door *Helix aspersa*, *Sambucus nigra*, of *Triticum vulgare*.

35 Wanneer het detectiemiddel een antilichaam is, dan kan zowel een monoklonaal als polyklonaal antilichaam worden toegepast. De keuze van een bepaald antilichaam is de deskundige bekend en behoeft derhalve niet nader te worden toegelicht.

1027737 III

Opgemerkt wordt dat de analyse-inrichting volgens de uitvinding bij voorkeur tevens is voorzien van een controle-detectiezone (niet weergegeven), die een combinatie van de detectiemiddelen van de diverse detectiezones bevat, of, bij voorkeur een lectine of antilichaam dat bindt aan alle in de analyse-inrichting (1) te detecteren celcomponenten.

Bij voorkeur zijn de detectiezones (6, 7), bij toepassing van een lectine zoals bijvoorbeeld concanavaline A, tevens behandeld met een oplossing van één of meer zouten met één of meer tweewaardige overgangsmetaalionen, in het bijzonder $MgCl_2$, $MnCl_2$ en/of $CaCl_2$.

Alternatief kan de detectiezone zijn geïmpregneerd met een koolhydraat dat erythrocyten kan agglomereren. Een dergelijke koolhydraat is bijvoorbeeld mannitol, sorbitol, glucose, lactose, maltose of saccharose. Bij voorkeur wordt lactose toegepast.

Omdat de bloedcellen zelf als indicator kunnen fungeren in de analyse-inrichting volgens de uitvinding, is een afzonderlijke indicator in de detectiezones en/of controlezone niet vereist. Uiteraard kunnen afzonderlijke indicatoren, zoals indicatoren op basis van koolstof, goud of latex worden toegepast. Verwezen wordt daarvoor naar EP 0.032.270.

Om de hechting van het detectiemiddel, zoals een lectine of een antilichaam, aan het chromatografische materiaal van laag (3) van de onderhavige analyse-inrichting te versterken, kan laag (3), voordat het detectiemiddel wordt aangebracht, ter plaatse van de detectie- en eventuele controlezone, zijn behandeld met een oplossing of suspensie van een bifunctioneel verknopingsmiddel, gevolgd door verwijdering van het oplosmiddel volgens op zichzelf bekende wijze, onder achterlating van een film van een bifunctioneel verknopingsmiddel. Voorbeelden van geschikte bifunctionele verknopingsmiddelen zijn polyethyleenglycolen met een molecuulgewicht van 500-20.000, en hetero bifunctionele verknopingsmiddelen zoals glutaaraldehyde, MBS, of ETA dicarbodiimide.

De scheidingszones (8a, 8b en 8c) zijn voorzien van een lysis van erythrocyten verhinderend materiaal. Een dergelijk materiaal bestaat bij voorkeur uit een dispergeermiddel, in het bijzonder een poloxameer, zoals Pluronic (handelsmerk van

BASF), of een erythrocyten-aggregerend materiaal, zoals een koolhydraat, bij voorkeur een lactose.

In figuur 2 is een op zichzelf bekende, uit 2 klemmend op elkaar passende delen bestaande houder (9), schematisch in
5 bovenaanzicht, voor een chromatografische analyse-inrichting volgens de uitvinding, weergegeven. In deze houder bevindt zich de analyse-inrichting. De bovenzijde (10) van de houder (9) is voorzien van opening (11), waaronder zich de opbrengzone (4) van de analyse-inrichting bevindt. Voorts is de
10 bovenzijde van houder (9) voorzien van een opening (12) die zodanige afmetingen bezit dat de aanwezige detectiezone(s) en eventuele controlezone zichtbaar kunnen worden. De niet van openingen voorziene achterzijde van houder (9) is aan de binnenzijde voorzien van middelen voor het positioneren van de
15 analyse-inrichting volgens de uitvinding (niet weergegeven). Bovenzijde en achterzijde van houder (9) zijn klemmend met elkaar verbonden.

De uitvinding wordt verder toegelicht aan de hand van het
20 volgende, niet-beperkende uitvoeringsvoorbeeld.

Een chromatografische analyse-inrichting volgens figuur 1, bestaande uit een polyesterlaag (3), en voorzien van een polystyreen ruglaag (2), met een lengte van ongeveer 6 cm, breedte van ongeveer 0,5 cm en dikte van ongeveer 0,1 cm, werd
25 op de van de ruglaag afgekeerde zijde, op de uiteinden voorzien van een monsteropbrengzone (4) respectievelijk afzuigzone (5). Als materiaal voor beide zones werd polyester of glasvezel toegepast, met dien verstande dat voor de monsteropbrengzone (4) de kanalen respectievelijk vezels van
30 het materiaal in hoofdzaak evenwijdig aan de korte zijden (13) van de inrichting (1) verlopen.

Om deze analyse-inrichting geschikt te maken voor de bepaling van 2 bloedgroepen werden detectiezones (6) en (7) elk voorzien van een voor een bloedgroep specifiek lectine,
35 bijvoorbeeld zone (6): concanavoline A, en zone (7): het door *Triticum vulgare* geproduceerde lectine, die specifiek zijn voor bloedgroep A respectievelijk bloedgroep B bij katten.

Vervolgens werden de scheidingszones (8a, 8b en 8c) behandeld met een blokkbuffer, om deze zones te voorzien van

een lysis van erythrocyten verhinderend materiaal, in het bijzonder, een poloxameer, zoals Pluronic. De blokbuffer bestond meer in het bijzonder uit een waterige oplossing met 0,3 - 9 gew.%, bij voorkeur 1 gew.%, Pluronic, en 0,1-5 gew.%,
5 bij voorkeur 0,5 gew.%, runder serum albumine. Na opbrengen van de blokbuffer-oplossing, bijvoorbeeld door vernevelen, werd de analyse-inrichting (1) gedroogd ter verkrijging van de voor gebruik gereede analyse-inrichting.

Voor het uitvoeren van de detectie werd bloed of een
10 bloed bevattende lichaamsvloeistof opgenomen in een waterige bufferoplossing, bestaande uit een antistollingsmiddel, zoals EDTA, bij voorkeur 5 - 15 gew.%, in het bijzonder ongeveer 11 gew.% van een 100 mM oplossing; een proteïne digererend enzym, bij voorkeur bromeline, in een concentratie van 0,01 - 9
15 gew.%, bij voorkeur 2 gew.%; Pluronic (BASF PE6400) als lysis verhinderend materiaal in een concentratie van 0,2 - 9 gew.%, bij voorkeur 0,3 - 5 gew.%, in het bijzonder 1 - 1,9 gew.%, meer bij voorkeur ongeveer 1,9 gew.%; alsmede ongeveer 0,01 M fosfaat gebufferde zoutoplossing ter verkrijging van een pH
20 van 5 - 9, bij voorkeur ongeveer 7,4.

Opgemerkt wordt dat in de praktijk bleek dat, omdat de onderhavige analyse is gebaseerd op de detectie van suikergroepen aan erythrocyten, bromeline een duidelijkere detectie mogelijk maakte, wellicht door het toegankelijk maken
25 van bepaalde suikergroepen die anders niet of onvolledig toegankelijk zijn.

Alternatief kan het bloedmonster worden opgenomen in een waterige bufferoplossing, bestaande uit een conserveringsmiddel (zoals natriumazide), α -lactose en natriumbifosfaat,
30 met een pH van 5 - 9, waarbij de concentratie α -lactose 0,3 - 6%, bij voorkeur 2,5% bedraagt. Ter verbetering van het detecterende vermogen van de inrichting kan een combinatie van α -lactose en Pluronic worden toegepast, waarbij de totale concentratie van beide stoffen 0,3 - 6%, bij voorkeur 2,5% is.
35 De natriumazide concentratie is doelmatig ongeveer 0,005%.

Nadat een hoeveelheid bloedmonster bevattende, waterige bufferoplossing van $\pm 60 \mu\text{l}$ is aangebracht op de monsteropbrengzone (4) van de chromatografische analyse-inrichting volgens de uitvinding, eventueel gevolgd door $2 \times 60 \mu\text{l}$

1027737

verdunningsbuffer (zoals hierna omschreven), zal de bufferoplossing zich verspreiden over de diverse zones en worden aangezogen door afzuigzone (5). Bij aanwezigheid van bloedgroep A zal ter plaatse van detectiezone (6) een rode band
5 ontstaan, en bij aanwezigheid van bloedgroep B, zal bij detectiezone (7) een rode band ontstaan, vanwege het feit dat erythrocyten als indicator kunnen worden benut. Indien voor een ander detectiemiddel wordt gekozen zullen de kleuren van de banden hiervan kunnen afwijken.

10 Desgewenst kan een verdunningsbuffer worden toegepast, met dezelfde samenstelling als bovengenoemde waterige bufferoplossing, doch uiteraard zonder een proteïne digerend enzyme.

Zoals hierboven is toegelicht kan de onderhavige
15 chromatografische analyse-inrichting worden toegepast voor de bloedgroepenbepaling op humaan en veterinair gebied. Afhankelijk van het aantal bloedgroepen, en de exacte bloedgroepen die men wenst te detecteren, zal het aantal detectiezones van de analyse-inrichting overeenkomstig worden
20 aangepast, en elk worden voorzien van een voor een bloedgroep geschikt detectiemiddel. Een dergelijke wijziging van de inrichting ligt echter binnen het bereik van een deskundige en zal niet nader worden toegelicht.

CONCLUSIES

1. Chromatografische analyse-inrichting (1) voor de detectie van celcomponenten van in bloed van humane of dierlijke oorsprong circulerende cellen, in een monster van een dergelijke cellen bevattende lichaamsvloeistof, omvattende een stripvormig chromatografisch medium (3) dat een monster-
5 opbrengzone (4), een afzuigzone (5), en tenminste één detectiezone (6, 7) bezit, waarbij opbrengzone, afzuigzone en detectiezone(s) onderling steeds van elkaar zijn gescheiden door ten minste een scheidingszone (8a, 8b, 8c) waarbij de
10 scheidingszone(s) is (zijn) voorzien van een lysis van de circulerende cellen verhinderend materiaal.
2. Chromatografische analyse-inrichting volgens conclusie 1, waarbij het lysis van circulerende cellen verhinderend
15 materiaal een disperseermiddel is, in het bijzonder een poloxameer.
3. Chromatografische analyse-inrichting volgens conclusie 1, waarbij het lysis van circulerende cellen verhinderend
20 materiaal bestaat uit een circulerende cellen-aggregerend materiaal, in het bijzonder een koolhydraat.
4. Chromatografische analyse-inrichting volgens conclusie 1, waarbij de in bloed circulerende cellen bestaan uit
25 erythrocyten.
5. Chromatografische analyse-inrichting volgens conclusies 1 - 4, waarbij de detectiezone (6, 7) is voorzien van een lectine of een anti-bloedcel antilichaam bevattend materiaal.
30
6. Chromatografische analyse-inrichting volgens conclusie 5, waarbij het lectine is gekozen uit concanavoline A, *Helix aspersa* lectine, *Sambucus nigra* lectine en *Triticum vulgare* lectine, bij voorkeur concanavoline A of *Triticum vulgare*
35 lectine.

7. Chromatografische analyse-inrichting volgens conclusies 5 of 6, waarbij de detectiezone (6, 7) voorts tenminste één tweewaardig overgangsmetaalzout bevat, in het bijzonder het chloride van calcium of mangaan.

5

8. Chromatografische analyse-inrichting volgens conclusies 5 - 7, waarbij tussen de lectine of anti-bloedcel antilichaam bevattende film en het chromatografische medium, een film van een bifunctioneel verknopingsmiddel aanwezig is, in het

10 bijzonder een polyethyleenglycol.

9. Test kit voor de detectie van celcomponenten van in bloed van humane of dierlijke oorsprong circulerende cellen, omvattende een chromatografische inrichting zoals omschreven in één of meer der conclusies 1 tot 8, een monster-houder voorzien van een dergelijke cellen-stabiliserende oplossing en desgewenst een houder met verdunningsvloeistof.

15

10. Test kit volgens conclusie 9, waarbij de in bloed circulerende cellen bestaan uit erythrocyten.

20

11. Test kit volgens conclusie 9 - 10, waarbij de verdunningsvloeistof en/of de erythrocyten-stabiliserende oplossing zijn voorzien van een lysis van erythrocyten verhinderend materiaal.

25

12. Test kit volgens conclusie 9 - 11, waarbij het lysis van erythrocyten verhinderend materiaal bestaat uit een erythrocyten-aggregerend materiaal, zoals een koolhydraat, of een dispergeermiddel, zoals een poloxameer.

30

13. Test kit volgens conclusie 9 - 12, waarbij het lysis van erythrocyten verhinderend materiaal aanwezig is in een concentratie van 0,2 - 9 gew.%, bij voorkeur 0,3 - 5 gew.%, meer in het bijzonder 1 - 1,9 gew.%.

35

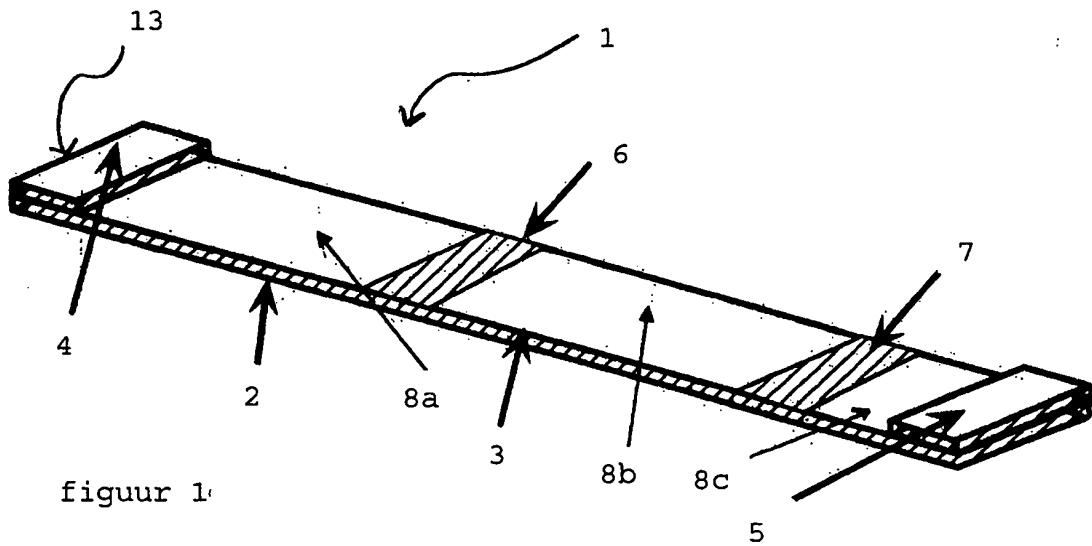
13. Test kit volgens conclusies 9 - 12, waarbij de erythrocyten-stabiliserende oplossing voorts een proteïne digererend

1027737

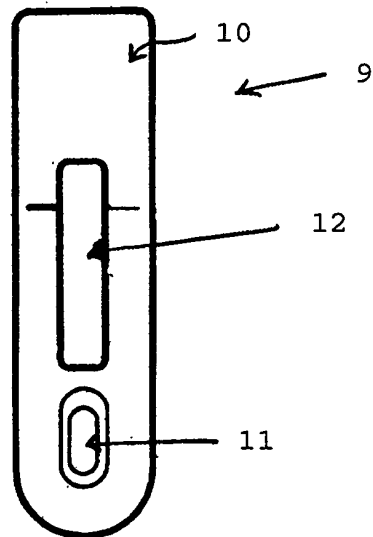
enzym bevat, bij voorkeur een neuromidase, in het bijzonder bromeline.

14. Test kit volgens conclusies 9 -13, waarbij de erythro-
5 cyten-stabiliserende oplossing voorts een conserveringsmiddel
bevat, zoals natriumazide.

1027737



figuur 1



figuur 2

1027737

SAMENWERKINGSVERDRAG (PCT)

RAPPORT BETREFFENDE NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN INTERNATIONAAL TYPE

IDENTIFICATIE VAN DE NATIONALE AANVRAGE	KENMERK VAN DE AANVRAGER OF VAN DE GEMACHTIGDE P2004NL005
Nederlands aanvraag nr. 1027737	Indieningsdatum 14 december 2004
	Ingeroepen voorrangsdatum
Aanvrager (Naam) Teststrip BV	
Datum van het verzoek voor een onderzoek van internationaal type	Door de Instantie voor Internationaal Onderzoek (ISA) aan het verzoek voor een onderzoek van internationaal type toegekend nr. SN 44330 NL
I. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP (bij toepassing van verschillende classificaties, alle classificatiesymbolen opgeven)	
Volgens de internationale classificatie (IPC) Int. CI 7: G01N33/558 G01N33/80	
II. ONDERZOCHE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK	
Onderzochte minimum documentatie	
Classificatiesysteem	Classificatiesymbolen
Int. CI 7:	G01N
Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie, voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen	
III. <input type="checkbox"/> GEEN ONDERZOEK MOGELIJK VOOR BEPAALDE CONCLUSIES (opmerkingen op aanvullingsblad)	
IV. <input type="checkbox"/> GEBREK AAN EENHEID VAN UITVINDING (opmerkingen op aanvullingsblad)	

**VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN
INTERNATIONAAL TYPE**

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek
NL 1027737

A. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP
IPC 7 G01N33/558 G01N33/80

Volgens de Internationale Classificatie van octrooien (IPC) of zowel volgens de nationale classificatie als volgens de IPC.

B. ONDERZOCHETE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK

Onderzochte minimum documentatie (classificatie gevolgd door classificatiesymbolen)
IPC 7 G01N

Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie, voor dergelijke documenten, voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen

Tijdens het internationaal nieuwheidsonderzoek geraadpleegde elektronische gegevensbestanden (naam van de gegevensbestanden en, waar uitvoerbaar, gebruikte trefwoorden)
EPO-Internal

C VAN BELANG GEACHTE DOCUMENTEN

Categorie °	Geciteerde documenten, eventueel met aanduiding van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie nr.
A	EP 0 223 978 A (ABBOTT LABORATORIES) 3 juni 1987 (1987-06-03) bladzijde 7, regel 35 - regel 47	1-14
A	GB 2 250 342 A (PALL CORPORATION) 3 juni 1992 (1992-06-03) samenvatting bladzijde 3, regel 27 - regel 35 bladzijde 5, regel 4 - regel 16 bladzijde 8, regel 15 - bladzijde 9, regel 8	1-14
A	EP 0 296 724 A (QUIDEL) 28 december 1988 (1988-12-28) het gehele document	1-14

Verdere documenten worden vermeld in het vervolg van vak C.

Leden van dezelfde octroofamilie zijn vermeld in een bijlage

° Speciale categorieën van aangehaalde documenten

"A" document dat de algemene stand van de techniek weergeeft, maar niet beschouwd wordt als zijnde van bijzonder belang

"E" eerder document, maar gepubliceerd op de datum van indiening of daarna

"L" document dat het beroep op een recht van voorrang aan twijfel onderhevig maakt of dat aangehaald wordt om de publikatiedatum van een andere aanhaling vast te stellen of om een andere reden zoals aangegeven

"O" document dat betrekking heeft op een mondelinge uiteenzetting, een gebruik, een tentoonstelling of een ander middel

"P" document gepubliceerd voor de datum van indiening maar na de ingeroepen datum van voorrang

"T" later document, gepubliceerd na de datum van indiening of datum van voorrang en niet in strijd met de aanvraag, maar aangehaald ter verduidelijking van het principe of de theorie die aan de uitvinding ten grondslag ligt

"X" document van bijzonder belang; de uitvinding waarvoor uitsluitende rechten worden aangevraagd kan niet als nieuw worden beschouwd of kan niet worden beschouwd op inventiviteit te berusten

"Y" document van bijzonder belang; de uitvinding waarvoor uitsluitende rechten worden aangevraagd kan niet worden beschouwd als inventief wanneer het document beschouwd wordt in combinatie met één of meerdere soortgelijke documenten, en deze combinatie voor een deskundige voor de hand ligt

"&" document dat deel uitmaakt van dezelfde octroofamilie

Datum waarop het nieuwheidsonderzoek van internationaal type werd voltooid

1 September 2005

Verzenddatum van het rapport van het nieuwheidsonderzoek van internationaal type

Naam en adres van de instantie

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

De bevoegde ambtenaar

Griffith, G

VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN
INTERNATIONAAL TYPE

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek

NL 1027737

C (Vervolg). VAN BELANG GEACHTE DOCUMENTEN		
Categorie °	Geciteerde documenten, eventueel met aanduiding van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie nr
A	US 4 358 394 A (H. R. CREWS ET AL.) 9 november 1982 (1982-11-09) kolom 2, regel 60 - regel 68 kolom 3, regel 58 - kolom 4, regel 21 -----	2,3,12

VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN

INTERNATIONAAL TYPE

Informatie over leden van dezelfde octrooifamilie

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek

NL 1027737

In het rapport genoemd octrooigescrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie
EP 0223978	A	03-06-1987	AT 79679 T 15-09-1992
			AU 610818 B2 30-05-1991
			AU 6368486 A 16-04-1987
			CA 1284103 C 14-05-1991
			DE 3686474 D1 24-09-1992
			DE 3686474 T2 11-02-1993
			EP 0223978 A1 03-06-1987
			ES 2001447 A6 16-05-1988
			JP 62088963 A 23-04-1987
GB 2250342	A	03-06-1992	GEEN
EP 0296724	A	28-12-1988	AT 117436 T 15-02-1995
			CA 1313616 C 16-02-1993
			DE 3852786 D1 02-03-1995
			DE 3852786 T2 17-08-1995
			EP 0296724 A2 28-12-1988
			ES 2069545 T3 16-05-1995
			JP 1059069 A 06-03-1989
			US 4943522 A 24-07-1990
			US 4358394
CA 1141634 A1 22-02-1983			
DE 3017152 A1 27-11-1980			
FR 2456325 A1 05-12-1980			
GB 2049929 A ,B 31-12-1980			
HK 10486 A 21-02-1986			
JP 1451923 C 25-07-1988			
JP 55151265 A 25-11-1980			
JP 62058470 B 05-12-1987			