

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Oktober 2007 (18.10.2007)

PCT

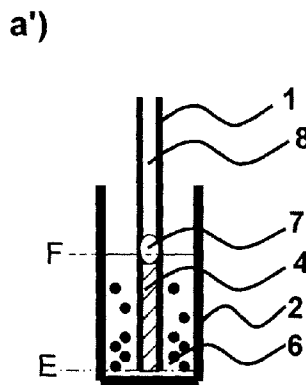
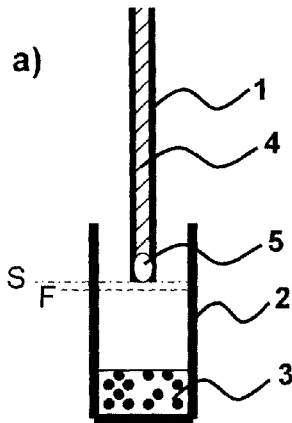
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2007/116083 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 35/10 (2006.01) *B01F 11/00* (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2007/053525
- (22) Internationales Anmeldedatum:
11. April 2007 (11.04.2007)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
10 2006 017 360.0 11. April 2006 (11.04.2006) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): DIASYS DIAGNOSTIC SYSTEMS [DE/DE]; Alte Strasse 9, 65558 Holzheim (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GORKA, Günther [DE/DE]; Adalbert-Stifter-Strasse 10, 65510 Idstein (DE).
- (74) Anwälte: SEIFFERT, Klaus usw.; Weber, Seiffert, Lieke, Postfach 61 45, 65051 Wiesbaden (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR METERING AND MIXING

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM DOSIEREN UND MISCHEN



(57) Abstract: The present invention relates to a method for automatically metering and mixing liquids, which method mixes the liquids in a particularly effective manner as quickly as possible and in a few steps, is easy to carry out, is inexpensive and does not require an additional component. This method comprises the following stages of: a) dispensing a volume of a liquid or a plurality of volumes of a plurality of liquids from a metering needle into a sample vessel, wherein the operation of dispensing the liquid or liquids from the metering needle begins when the dispensing opening of the metering needle is in a starting position (S), the

dispensing operation is continued while the metering needle is moved downwards in the vertical direction in the direction of an end position (E), and the dispensing operation ends when the dispensing opening of the metering needle is in the end position (E), wherein the starting position is at a distance from the base of the sample vessel in the vertical direction, which distance corresponds to the maximum filling level of the sample vessel after the liquid has been fully dispensed in this stage or is above said filling level or at most 10% below the latter, based on the distance from the base of the sample vessel up to the maximum filling level of the sample vessel after the liquid has been fully dispensed in this stage, and wherein the end position (E) is below the starting position (S) in the vertical direction and is at a distance from the base of the sample vessel; b) using the metering needle to suck up at least some of the volume of liquid present in the sample vessel while the dispensing opening of the metering needle is in the end position (E); c) moving the metering needle in the vertical direction until the dispensing opening is in the starting position (S); d) dispensing the volume of liquid which has been sucked up from the metering needle, wherein the dispensing operation begins when the dispensing opening of the metering needle is in the starting position (S), the dispensing operation is continued while the metering needle is moved downwards in the vertical direction in the direction of the end position (E), and the dispensing operation ends when the dispensing opening of the metering needle is in the end position (E).

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum automatischen Dosieren und Mischen von Flüssigkeiten, welches die Flüssigkeiten möglichst schnell und in wenigen Schritten besonders effektiv mischt, das einfach durchzuführen und preisgünstig ist und keine zusätzliche Komponente benötigt. Dieses Verfahren umfaßt die folgenden Stufen: a) Abgeben eines Volumens einer Flüssigkeit oder mehrerer Volumina mehrerer Flüssigkeiten aus einer Dosiernadel in

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2007/116083 A1



FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

ein Probengefäß, wobei die Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten aus der Dosiernadel beginnt, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei einer Startposition (S) befindet, die Abgabe fortgesetzt wird, während die Dosiernadel in vertikaler Richtung abwärts in Richtung einer Endposition (E) verfahren wird, und die Abgabe endet, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Endposition (E) befindet, wobei sich die Startposition in vertikaler Richtung in einem Abstand vom Boden des Probengefäßes, der der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in dieser Stufe entspricht, oder darüber oder maximal 10% darunter, bezogen auf den Abstand vom Boden des Probengefäßes bis zu der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in dieser Stufe, befindet und wobei sich die Endposition (E) in vertikaler Richtung unterhalb der Startposition (S) und in einem Abstand zum Boden des Probengefäßes befindet; b) Aufsaugen wenigstens eines Teils des in dem Probengefäß vorhandenen Flüssigkeitsvolumens mit der Dosiernadel, während sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel in der Endposition (E) befindet; c) Verfahren der Dosiernadel in vertikaler Richtung, bis sich die Abgabeöffnung bei der Startposition (S) befindet; d) Abgeben des aufgesaugten Flüssigkeitsvolumens aus der Dosiernadel, wobei die Abgabe beginnt, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Startposition (S) befindet, die Abgabe fortgesetzt wird, während die Dosiernadel in vertikaler Richtung abwärts in Richtung der Endposition (E) verfahren wird, und die Abgabe endet, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Endposition (E) befindet.

Verfahren zum Dosieren und Mischen

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum automatischen Dosieren und Mischen von Flüssigkeiten in einem Probengefäß mittels einer Dosiernadel.

Bei der automatischen oder halbautomatischen Durchführung von chemischen Reaktionen, insbesondere Analyseverfahren, ist es erforderlich, daß mehrere Flüssigkeiten wie Proben und Reagenzien homogen vermischt werden. Das am häufigsten verwendete Verfahren besteht darin, daß nach Zugabe aller Flüssigkeiten eine Mischvorrichtung in das Reaktionsgefäß einfährt und die Flüssigkeiten durch Verrühren vermischt. Dieses Verfahren birgt den Nachteil, daß eine zusätzliche Komponente vorhanden ist, die programmiert werden muß, und daß die Kontaminationsgefahr durch ein zusätzliches Instrument, das mit den Flüssigkeiten in Berührung kommt, steigt.

Die JP 07239334 beschreibt ein weiteres Verfahren zum Mischen von Flüssigkeiten, bei dem eine kleine Menge einer ersten Probenlösung in das Probengefäß pipettiert wird und anschließend mit einer weiteren Pipette eine große Menge einer verdünnenden Lösung zugegeben wird. Dieses Verfahren eignet sich nur, wenn zwei Flüssigkeiten mit sehr unterschiedlichen Volumina gemischt werden sollen. Im übrigen kann durch dieses Verfahren nicht für jede Art von Flüssigkeiten eine homogene Mischung erzielt werden.

Ein weiteres Verfahren zum Mischen von Flüssigkeiten mit Hilfe einer Pipette ist in der JP 62184357 beschrieben. Dabei wird eine Pipette oder Dosiernadel mehrfach in die Flüssigkeit in einem Probengefäß eingetaucht, die Flüssigkeit aufgesaugt, danach die Pipette angehoben, so daß sich deren Spitze oberhalb der Flüssigkeitsoberfläche befindet und die Flüssigkeit wieder ausgestoßen. Um eine homogene Mischung zu erhalten, muß dieses Verfahren häufig wiederholt werden.

Ausgehend von diesem Stand der Technik liegt der vorliegenden Erfindung die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zum automatischen Dosieren und Mischen von Flüssigkeiten zur Verfügung zu stellen, welches die Flüssigkeiten möglichst schnell und in wenigen Schritten besonders effektiv mischt, das einfach durchzuführen und preisgünstig ist und keine zusätzliche Komponente benötigt.

Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren der eingangs genannten Art gelöst, das die folgenden Stufen hat:

- a) Abgeben eines Volumens einer Flüssigkeit oder mehrere Volumina mehrerer Flüssigkeiten aus einer Dosiernadel in ein Probengefäß, wobei die Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten aus der Dosiernadel beginnt, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei einer Startposition (S) befindet, die Abgabe fortgesetzt wird, während die Dosiernadel in vertikaler Richtung abwärts in Richtung einer Endposition (E) verfahren wird, und die Abgabe endet, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Endposition (E) befindet,
wobei sich die Startposition in vertikaler Richtung in einem Abstand vom Boden des Probengefäßes, der der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in dieser Stufe entspricht, oder darüber oder maximal 10% darunter, bezogen auf den Abstand vom Boden des Probengefäßes bis zu der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in dieser Stufe, befindet, und
wobei sich die Endposition (E) in vertikaler Richtung unterhalb der Startposition (S) und in einem Abstand zum Boden des Probengefäßes befindet;
- b) Aufsaugen wenigstens eines Teiles des in dem Probengefäß vorhandenen Flüssigkeitsvolumens mit der Dosiernadel, während sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel in der Endposition (E) befindet;
- c) Verfahren der Dosiernadel in vertikaler Richtung, bis sich die Abgabeöffnung bei der Startposition (S) befindet;
- d) Abgeben des aufgesaugten Flüssigkeitsvolumens aus der Dosiernadel, wobei die Abgabe beginnt, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Startposition (S) befindet, die Abgabe fortgesetzt wird, während die Dosiernadel in vertikaler Richtung abwärts in Richtung der Endposition (E) verfahren wird, und die Abgabe endet, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Endposition (E) befindet.

Bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem vor Stufe a) ein Volumen einer Flüssigkeit oder mehrere Volumina mehrerer Flüssigkeiten aus einer Dosiernadel in das Probengefäß abgegeben werden. Dadurch können beispielsweise ein oder mehrere Proben, Reagenzien oder Puffer in verschiedenen Probengefäßen vorgelegt werden und der eigentliche Mischvorgang mit der Zugabe einer weiteren Flüssigkeit durchgeführt werden.

Weiterhin bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem die Stufen a) bis d) mit einer oder mehreren Flüssigkeiten wiederholt werden. Vielfach werden chemische Reaktionen durch die Zugabe

einer bestimmten Substanz gesteuert. Insbesondere bei analytischen Reaktionen ist es daher nötig, diese Substanz möglichst schnell mit den übrigen Flüssigkeiten zu mischen, um eine einheitliche Reaktion zu gewährleisten. Durch das erfindungsgemäße Verfahren kann eine schnelle homogene Mischung aller Flüssigkeiten erreicht werden.

Erfindungsgemäß bevorzugt ist auch ein Verfahren, bei welchem die Stufen b) bis d) ein oder mehrere weitere Male wiederholt werden. Manche Flüssigkeiten können aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften wie der Viskosität nur sehr langsam pipettiert werden und mischen sich unter Umständen sehr schlecht mit anderen Flüssigkeiten, daher ist es sinnvoll, wenn die Stufen des Aufsaugens und des Wiederabgebens der Flüssigkeit in das Probengefäß wiederholt werden. Damit wird auch bei Flüssigkeiten mit hohen Viskositäten, stark unterschiedlichen Viskositäten oder stark unterschiedlichen Dichten eine homogene Mischung erreicht.

Besonders bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem sich die Startposition (S) in vertikaler Richtung zwischen 0,5% und 50%, bevorzugt zwischen 0,5% und 20%, bezogen auf den Abstand vom Boden des Probengefäßes bis zu der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in der jeweiligen Stufe, oberhalb der maximalen Füllhöhe nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in der jeweiligen Stufe befindet. Die Startposition, in welcher sich die Dosiernadel bei Beginn der Abgabe der Flüssigkeit befindet, soll sich oberhalb der Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe befinden, da sich mehrere sukzessiv zugegebene Flüssigkeiten oder eine bereits vorgelegte Flüssigkeit mit den Flüssigkeiten, die zugegeben werden, bereits durch die Verwirbelung, die beim Auftreffen der Flüssigkeit auf den Flüssigkeitsspiegel entstehen, vermischen. Ist der Abstand zu gering, so finden nicht ausreichend Verwirbelungen statt, ist er zu groß, so besteht die Gefahr, daß ein Teil der zugegebenen Flüssigkeit am Rand des Probengefäßes verbleibt, bzw. es zu Spritzern beim Auftreffen der Flüssigkeit auf bereits vorhandene Flüssigkeit kommt, was zu einem Verlust von Flüssigkeiten und damit zu Ungenauigkeiten führen würde.

Weiterhin bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem sich die Endposition (E) in vertikaler Richtung in einem Abstand zwischen 0,5% und 20%, bevorzugt zwischen 0,5% und 10%, besonders bevorzugt zwischen 0,5% und 5%, bezogen auf den Abstand vom Boden des Probengefäßes bis zu der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in der jeweiligen Stufe, oberhalb des Bodens des Probengefäßes befindet. Die Endposition der Abgabeöffnung der Dosiernadel soll sich deutlich unterhalb der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes befinden, so daß der größte Teil der Abgabe unterhalb des Flüssigkeitsspiegels erfolgt und damit eine Durchmischung der Flüssigkeiten in vertikaler Richtung gewährleistet ist.

Andererseits ist es nötig, daß zwischen der Abgabeöffnung der Dosiernadel und dem Boden des Probengefäßes ein Mindestabstand eingehalten wird, so daß in der Endposition ein Aufsaugen von Flüssigkeit ermöglicht wird.

Bevorzugt ist weiterhin, daß bei einem erfindungsgemäßen Verfahren mehrere Flüssigkeitsvolumina in der Dosiernadel durch Luftblasen getrennt werden. Diese Trennluftblasen verhindern ein Durchmischen der Flüssigkeit in der Dosiernadel, wodurch eine ungesteuerte Reaktion und eine Kontamination der Flüssigkeiten verhindert wird. Vorzugsweise werden die Trennluftblasen oberhalb des Flüssigkeitsspiegels aus der Dosiernadel abgegeben, so daß nach Abgabe der Flüssigkeit keine Luftblasen in dem Flüssigkeitsvolumen in dem Probengefäß verbleiben, die sonst eventuelle Messungen stören könnten.

Besonders bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem vor Stufe b) die Dosiernadel in vertikaler Richtung aufwärts verfahren wird, bis sich die Abgabeöffnung über der Flüssigkeitsoberfläche befindet, dann eine Trennluftblase angesaugt und anschließend die Dosiernadel wieder in die Endposition (E) verfahren wird. Um ein exaktes Zugabevolumen zu erreichen, kann sich in der Dosiernadel mehr Flüssigkeit befinden, als zugegeben werden soll. Die Zugabe wird dann gestoppt, wenn das gewünschte Volumen aus der Dosiernadel in das Probengefäß abgegeben wurde. In der Dosiernadel verbleibt damit ein Teil einer Flüssigkeit, die nicht mit den Flüssigkeiten in dem Probengefäß vermischt werden soll. Durch das Ansaugen einer Trennluftblase nach Stufe a) wird verhindert, daß die sich in dem Probengefäß bereits befindenden zu mischenden oder bereits gemischte Flüssigkeiten in den darauffolgenden Stufen mit der Flüssigkeit, die in der Dosiernadel verbleibt, vermischen.

Bevorzugt ist auch ein Verfahren, bei welchem die Geschwindigkeit, mit der die Dosiernadel in das Probengefäß hineinverfahren wird, zu der Geschwindigkeit der Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten proportional ist. Die Startposition (S) und die Endposition (E) stellen gleichzeitig den Start- und Endpunkt einer Bewegung sowie den Start- und Endpunkt der Abgabe der Flüssigkeit dar. Sind die beiden Geschwindigkeiten zueinander proportional, wird die Berechnung der Geschwindigkeiten vereinfacht.

Weiterhin bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem die Geschwindigkeit, mit der die Dosiernadel in das Probengefäß hineinverfahren wird und/oder die Geschwindigkeit der Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten aus der Dosiernadel gleichbleibend ist. Gleichbleibende Geschwindigkeiten, sowohl der Abgabe also auch der Geschwindigkeit, mit der die Dosiernadel in das Probengefäß eingefahren wird, gewährleisten eine gleichmäßige Verteilung der Flüssigkei-

ten die abgegeben werden, insbesondere, wenn die Dosiernadel sich unterhalb des Flüssigkeitsspiegels befindet. Im übrigen sind bei der Automatisierung gleichbleibende Geschwindigkeiten auch leichter zu verwirklichen.

Weiterhin bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem die Geschwindigkeit der Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten aus der Dosiernadel zwischen 0,1 und 2 ml/s, bevorzugt zwischen 0,2 und 1 ml/s beträgt. Für Gesamtvolumina von typischerweise bis zu 1 ml sind dies geeignete Abgabegeschwindigkeiten, damit eine homogene Mischung in möglichst wenigen Schritten erreicht wird. Höhere Geschwindigkeiten können zu einem Herausspritzen von Flüssigkeit und damit zu Volumenfehlern bei der Flüssigkeitsabgabe führen, wodurch keine einheitlichen Reaktionsbedingungen gewährleistet wären. Geringere Geschwindigkeiten würden bei der Abgabe in die Flüssigkeit nicht für ausreichend Verwirbelung sorgen, so daß daraus eine weniger gute Vermischung resultiert und daher zusätzliche Wiederholungen der Stufen b) bis d) benötigt würden, was das Verfahren zusätzlich verlangsamt.

Besonders bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem in Stufe b) 50 bis 100 Vol.-% des in dem Probengefäß vorhandenen Flüssigkeitsvolumens, bevorzugt 70 bis 95 Vol.-%, besonders bevorzugt 90 bis 95 Vol.-%, aufgesaugt werden. Werden weniger als 50 Vol.-% des Flüssigkeitsvolumens aufgesaugt, so erhöht sich die Zahl der benötigten Mischvorgänge bis zum Erreichen einer homogenen Mischung. Das Aufsaugen von mehr als 95 Vol.-% ist technisch nicht sinnvoll, da die Wahrscheinlichkeit, daß dabei Luft mitaufgesaugt würde, sehr groß ist und dadurch keine bessere Mischung gewährleistet wäre.

Besonders bevorzugt ist auch, daß die Dosiernadel zum Temperieren der Flüssigkeiten eingesetzt wird. Da beim Aufsaugen und Abgeben von Flüssigkeiten eine große Flüssigkeitsoberfläche mit der Dosiernadel in Berührung kommt, ist es sinnvoll, die Dosiernadel zu beheizen und dadurch eine schnelle Vortemperierung der Flüssigkeit zu erreichen. Dies reduziert auch die Anforderungen an weiteres technisches Gerät, das dem Temperieren der Flüssigkeiten dient, wodurch das Verfahren preisgünstiger wird.

Weiterhin bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem eine Dosiernadel verwendet wird, deren Innendurchmesser an der Abgabeöffnung kleiner als 1 mm ist und bevorzugt zwischen 0,5 und 0,8 mm beträgt. Für Gesamtvolumina von bis zu 1 ml sind dies geeignete Größen für die Abgabeöffnung der Dosiernadel. Kleinere Öffnungen würden das optimale Durchtreten der Flüssigkeiten verhindern. Größere Öffnungen würden die Wirbelbildung an der Kante der Abgabeöffnung reduzieren und damit zu einer schlechteren Vermischung führen.

Geeignet ist auch ein Verfahren, bei welchem eine Dosiernadel verwendet wird, deren Spitze im wesentlichen abgeschrägt ist. Bei der Abgabe von Flüssigkeiten aus einer Dosiernadel mit abgeschrägter Spitze in bereits vorgelegte Flüssigkeiten werden Wirbel erzeugt, die die Mischwirkung des Verfahrens unterstützen.

Geeignet ist auch ein Verfahren, bei welchem eine Dosiernadel mit einer geschlossenen Spitze verwendet wird, bei der sich seitlich mehrere Abgabeöffnungen befinden. Durch das Anbringen von seitlichen Abgabeöffnungen wird die Flüssigkeit zur Seite abgegeben und erzeugt dort zusätzliche Verwirbelungen. Auch dies unterstützt die Mischwirkung des Verfahrens.

Besonders bevorzugt ist ein Verfahren, bei welchem als Probengefäß eine Meßküvette verwendet wird. Insbesondere bei analytischen Testreaktionen ist es sinnvoll, die Mischung der Flüssigkeiten direkt in der Meßküvette durchzuführen, da dadurch ein weiterer Automatisierungsschritt und eine weitere Flüssigkeitsübertragung vermieden werden. Dies führt einerseits zu Kostenersparnis und reduziert andererseits das Risiko einer Kontamination. Das Verwenden einer Meßküvette als Probengefäß ist bei diesem Mischverfahren auch deshalb möglich, weil eine Bildung bzw. ein Verbleiben von Luftblasen innerhalb der Flüssigkeit verhindert wird und weil die Dosiernadel an keiner Stelle das Probengefäß berührt und dadurch die Meßküvette nicht mechanisch beansprucht wird.

Weitere Vorteile und Merkmale des erfindungsgemäßen Verfahrens werden deutlich anhand der folgenden Beschreibung der Figuren.

Figur 1 zeigt eine schematische Darstellung des Verfahrens zum Dosieren und Mischen von Flüssigkeiten, bestehend aus den Stufen:

- a) a') Abgeben eines Flüssigkeitsvolumens;
- b) Aufsaugen eines Teils des in dem Probengefäß vorhandenen Flüssigkeitsvolumens;
- c) Verfahren der Dosiernadel in vertikaler Richtung zur Startposition (S) und
- d) d') Abgeben des aufgesaugten Flüssigkeitsvolumens.

Figur 2 zeigt eine schematische Darstellung des Ansaugens einer Trennluftblase.

In Figur 1 a) ist ein Probengefäß 2 mit einer Flüssigkeit 3 gezeigt, in welches mit Hilfe einer Dosiernadel 1 eine weitere Flüssigkeit 4 zugegeben werden soll. Die Abgabeöffnung der Dosiernadel

nadel 1 befindet sich bei einer Startposition S. Die Linie F bezeichnet die maximale Füllhöhe F des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in dieser Stufe. Die Startposition S befindet sich oberhalb der maximalen Füllhöhe F. Die Flüssigkeit 4 ist von der Umgebung nach außen durch eine Trennluftblase 5 abgetrennt. Diese wird bei Beginn der Zugabe, d. h. während die Dosiernadel 1 in das Probengefäß 2 verfahren wird, an die Luft abgegeben und verbleibt somit nicht in der sich in dem Probengefäß befindlichen Flüssigkeit. Das Verfahren der Dosiernadel 1 in das Probengefäß 2 hinein kann sowohl durch eine Bewegung der Dosiernadel als auch durch eine Bewegung des Probengefäßes oder eine Kombination dieser Bewegungen durchgeführt werden.

Figur 1 a') zeigt die Dosiernadel 1 in dem Probengefäß 2 bei Ende der Abgabe der Flüssigkeit 4. Die Abgabeöffnung der Dosiernadel befindet sich bei der Endposition E oberhalb des Bodens des Probengefäßes. In dem Probengefäß 2 befindet sich nun eine Mischung 6 aus den beiden Flüssigkeiten 3 und 4. Dabei stellen die Punkte die Verteilung der Flüssigkeit 3 innerhalb der Mischung 6 dar. In dieser Ausführungsform wurde die Flüssigkeit 4 nicht vollständig aus der Dosiernadel 1 in das Probengefäß 2 abgegeben. Aus Gründen der Genauigkeit der Abgabe verbleibt ein Rest der Flüssigkeit 4 in der Dosiernadel 1, wobei dieser Rest durch eine Trennluftblase 7 von der Systemflüssigkeit 8, die sich oberhalb dieser Luftblase 7 in der Dosiernadel 1 befindet, abgegrenzt wird.

Obwohl durch die Abgabe der Flüssigkeit 4 unter gleichzeitigem Einfahren der Dosiernadel 1 in das Probengefäß 2 in den meisten Anwendungen bereits eine gute Vermischung der Flüssigkeiten 3 und 4 erzielt wird, können je nach Art der Flüssigkeiten noch Konzentrationsunterschiede im Probengefäß 2 vorherrschen. Aus diesem Grund wird ein Teil der Flüssigkeit in dem Probengefäß in einer weiteren Stufe aufgesaugt und erneut abgegeben. Figur 1 b) zeigt die Dosiernadel 1 nach Aufsaugen eines Teils des in dem Probengefäß vorhandenen Flüssigkeitsvolumens des Flüssigkeitsgemisches 6. Die Abgabeöffnung der Dosiernadel befindet sich dabei in der Endposition E.

Nach dem Aufsaugen wird die Dosiernadel wieder aus dem Probengefäß herausgefahren, bis sich die Abgabeöffnung bei der Startposition S befindet. Dies ist in Figur 1 c) gezeigt. Ein großer Anteil des Flüssigkeitsvolumens der Mischung 6 befindet sich in der Dosiernadel 1 und kann nun erneut in das Probengefäß 2 abgegeben werden, während die Dosiernadel 1 in das Probengefäß 2 verfahren wird.

Figur 1 d) zeigt die Dosiernadel in dem Probengefäß während der erneuten Flüssigkeitsabgabe. Dabei fährt die Dosiernadel 1 in das Probengefäß 2 ein, bis sich die Abgabeöffnung bei der Endposition E befindet. Gleichzeitig wird die Flüssigkeit aus der Dosiernadel abgegeben.

In Figur 1 d') ist das Ende des Mischvorgangs gezeigt. Dabei befinden sich in dem Probengefäß 2 das Flüssigkeitsgemisch 6, das nunmehr eine sehr homogene Mischung der Lösungen 4 und 3 ist, und in der Dosiernadel 1 ein verbleibender Rest der Flüssigkeit 4 und eine Trennluftblase 7, die diese von der Systemflüssigkeit 8 in der Nadel 1 abtrennt.

Figur 2 zeigt die Aufnahme einer Trennluftblase 9 in die Dosiernadel 1 vor der Stufe b) in Figur 1 b), um ein Vermischen der verbleibenden Flüssigkeit 4 in der Dosiernadel 1 mit der Flüssigkeitsmischung 6 zu verhindern.

Figur 2 a) zeigt dabei, daß nach der Zugabe der Flüssigkeit 4 zu der Flüssigkeit 3 in dem Probengefäß 2, die Dosiernadel mit der Abgabeöffnung in die Startposition S verfahren wird. Dabei befindet sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel 1 oberhalb der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in dieser Stufe und damit oberhalb des Flüssigkeitsspiegels.

Durch Ansaugen von Luft in Figur 2 b) entsteht in der Dosiernadel 1 eine Luftblase 9, die die in der Dosiernadel befindliche Flüssigkeit 4 beim nachfolgenden Ansaugen des Flüssigkeitsgemisches 6 abtrennt. Die Trennluftblase 9 wird an dieser Stelle angesaugt, um in der nachfolgenden Stufe b) (Figur 1 b)) eine Durchmischung des in der Dosiernadel verbleibenden Rests der Flüssigkeit 4 mit dem zu mischenden Flüssigkeitsgemisch 6 zu verhindern. Weiterhin ist in der Dosiernadel die Luftblase 7 enthalten, die die Flüssigkeit 4 von der Systemflüssigkeit 8 in der Nadel trennt.

Für Zwecke der ursprünglichen Offenbarung wird darauf hingewiesen, daß sämtliche Merkmale, wie sie sich aus der vorliegenden Beschreibung, den Zeichnungen und den Ansprüchen für einen Fachmann erschließen, auch wenn sie konkret nur im Zusammenhang mit bestimmten weiteren Merkmalen beschrieben werden, sowohl einzeln als auch in beliebigen Zusammenstellungen mit anderen der hier offenbarten Merkmale oder Merkmalsgruppen kombinierbar sind, soweit dies nicht ausdrücklich ausgeschlossen wurde oder technische Gegebenheiten derartige Kombinationen unmöglich oder sinnlos machen. Auf die umfassende, explizite Darstellung sämtlicher denkbarer Merkmalskombinationen wird hier nur der Kürze und der Lesbarkeit der Beschreibung wegen verzichtet.

Patentansprüche:

1. Verfahren zum automatischen Dosieren und Mischen von Flüssigkeiten in einem Probengefäß mittels einer Dosiernadel mit den folgenden Stufen:
 - a) Abgeben eines Volumens einer Flüssigkeit oder mehrerer Volumina mehrerer Flüssigkeiten aus einer Dosiernadel in ein Probengefäß, wobei die Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten aus der Dosiernadel beginnt, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei einer Startposition (S) befindet, die Abgabe fortgesetzt wird, während die Dosiernadel in vertikaler Richtung abwärts in Richtung einer Endposition (E) verfahren wird, und die Abgabe endet, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Endposition (E) befindet, wobei sich die Startposition in vertikaler Richtung in einem Abstand vom Boden des Probengefäßes, der der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in dieser Stufe entspricht, oder darüber oder maximal 10% darunter, bezogen auf den Abstand vom Boden des Probengefäßes bis zu der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in dieser Stufe, befindet und wobei sich die Endposition (E) in vertikaler Richtung unterhalb der Startposition (S) und in einem Abstand zum Boden des Probengefäßes befindet;
 - b) Aufsaugen wenigstens eines Teils des in dem Probengefäß vorhandenen Flüssigkeitsvolumens mit der Dosiernadel, während sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel in der Endposition (E) befindet;
 - c) Verfahren der Dosiernadel in vertikaler Richtung, bis sich die Abgabeöffnung bei der Startposition (S) befindet;
 - d) Abgeben des aufgesaugten Flüssigkeitsvolumens aus der Dosiernadel, wobei die Abgabe beginnt, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Startposition (S) befindet, die Abgabe fortgesetzt wird, während die Dosiernadel in vertikaler Richtung abwärts in Richtung der Endposition (E) verfahren wird, und die Abgabe endet, wenn sich die Abgabeöffnung der Dosiernadel bei der Endposition (E) befindet.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei vor Stufe a) ein Volumen einer Flüssigkeit oder mehrere Volumina mehrerer Flüssigkeiten aus einer Dosiernadel in das Probengefäß abgegeben werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Stufen a) bis d) mit einer oder mehreren weiteren Flüssigkeiten wiederholt werden.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Stufen b) bis d) ein oder mehrere weitere Male wiederholt werden.
5. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei sich die Startposition (S) in vertikaler Richtung in einem Abstand zwischen 0,5% und 50%, bevorzugt zwischen 0,5% und 20%, besonders bevorzugt zwischen 0,5% und 10%, bezogen auf den Abstand vom Boden des Probengefäßes bis zu der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in der jeweiligen Stufe, oberhalb der maximalen Füllhöhe nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in der jeweiligen Stufe befindet.
6. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei sich die Endposition (E) in vertikaler Richtung in einem Abstand zwischen 0,5% und 20%, bevorzugt zwischen 0,5% und 10%, besonders bevorzugt zwischen 0,5% und 5%, bezogen auf den Abstand vom Boden des Probengefäßes bis zu der maximalen Füllhöhe des Probengefäßes nach vollständiger Flüssigkeitsabgabe in der jeweiligen Stufe, oberhalb des Bodens des Probengefäßes befindet.
7. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei mehrere Flüssigkeitsvolumina in der Dosiernadel durch Luftblasen getrennt werden.
8. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei vor Stufe b) die Dosiernadel in vertikaler Richtung aufwärts verfahren wird, bis sich die Abgabeöffnung über der Flüssigkeitsoberfläche befindet, dann eine Trennluftblase angesaugt wird und anschließend die Dosiernadel wieder in die Endposition (E) hineinverfahren wird.
9. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Geschwindigkeit, mit der die Dosiernadel in das Probengefäß verfahren wird, zu der Geschwindigkeit der Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten proportional ist.
10. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Geschwindigkeit, mit der die Dosiernadel in das Probengefäß hineinverfahren wird, gleichbleibend ist.
11. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Geschwindigkeit der Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten aus der Dosiernadel gleichbleibend ist.

12. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Geschwindigkeit der Abgabe der Flüssigkeit oder Flüssigkeiten aus der Dosiernadel zwischen 0,1 und 2 ml/s, bevorzugt zwischen 0,2 und 1 ml/s, beträgt.
13. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei in Stufe b) 50-100 Vol.-% des in dem Probengefäß vorhandenen Flüssigkeitsvolumens, bevorzugt 70-95 Vol.-%, besonders bevorzugt 90-95 Vol.-%, aufgesaugt werden.
14. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Dosiernadel zum Temperieren der Flüssigkeiten beheizt wird.
15. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei eine Dosiernadel verwendet wird, deren Innendurchmesser an der Abgabeöffnung kleiner als 1 mm ist und bevorzugt zwischen 0,5 und 0,8 mm beträgt.
16. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei als Dosiernadel eine Nadel mit einer abgeschrägten Spitze verwendet wird.
17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, wobei als Dosiernadel eine Nadel mit einer geschlossenen Spitze verwendet wird, bei der sich seitlich mehrere Abgabeöffnungen befinden.
18. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei als Probengefäß eine Meßküvette verwendet wird.
19. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei mehrere Dosiernadeln verwendet werden, um mehrere Probengefäße gleichzeitig zu befüllen.

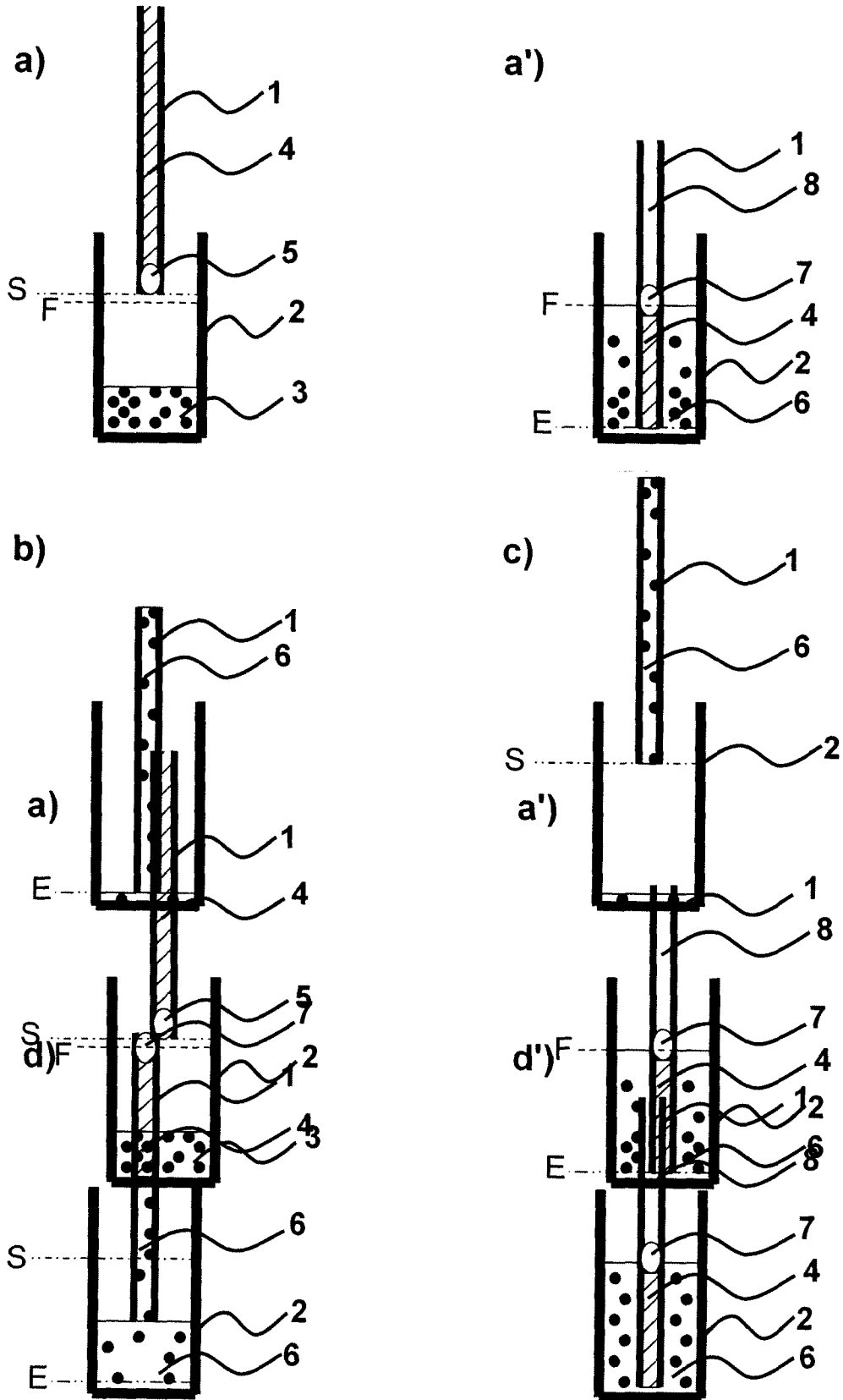


Fig. 1

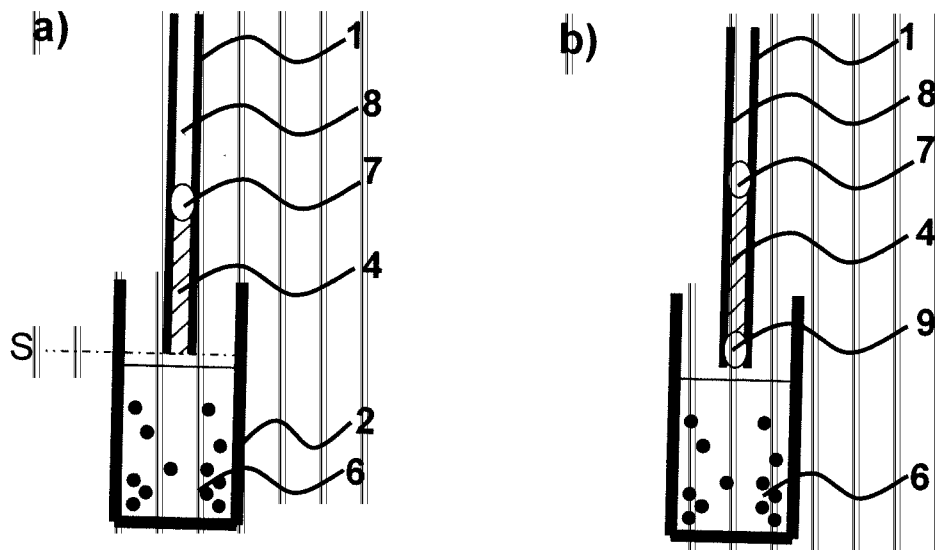
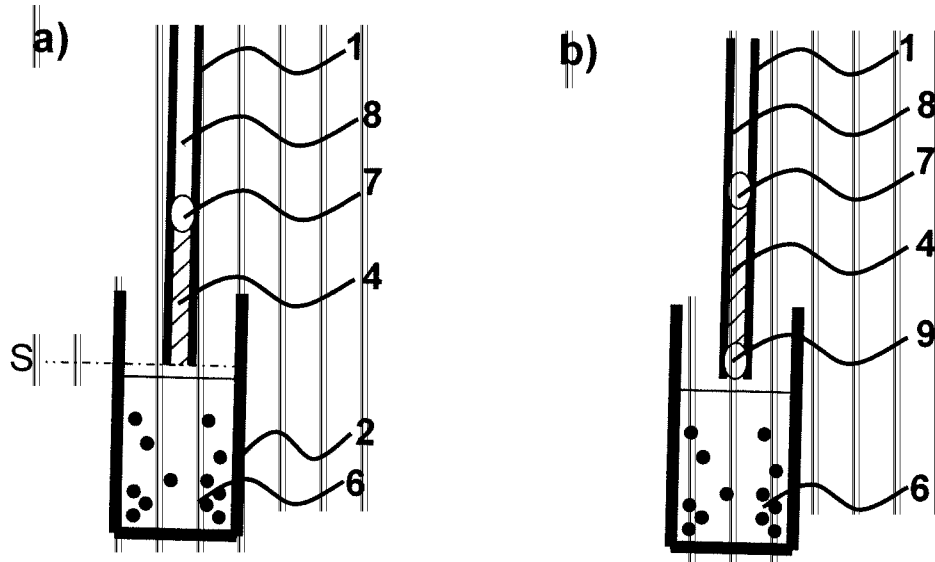


Fig. 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/053525

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N35/10 B01F11/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N B01F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 1 498 736 A (ORTHO CLINICAL DIAGNOSTICS INC [US]) 19 January 2005 (2005-01-19) paragraph [0012] - paragraph [0015] paragraph [0019] - paragraph [0020] figures 1a-1c	1-19
A	WO 93/25309 A (KAARTINEN NILO [FI]) 23 December 1993 (1993-12-23) page 13, line 29 - page 14, line 6 page 16, line 23 - page 17, line 14 figures 10,15,16	1-19
A	EP 1 138 372 A (ARKRAY INC [JP]) 4 October 2001 (2001-10-04) figures 1(A)-1(F)	1-19
	-/--	

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 July 2007

Date of mailing of the international search report

23/07/2007

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Timonen, Tuomo

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/053525

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 133 392 A (HAMANN J ERIC [US] ET AL) 28 July 1992 (1992-07-28) column 4, line 3 - line 11 figures 2A-2F -----	1-19
A	DE 31 15 568 A1 (BECKMAN INSTRUMENTS INC [US]) 15 April 1982 (1982-04-15) figure 2 -----	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/053525

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 1498736	A	19-01-2005	AU 2004203237 A1	03-02-2005
			CA 2474529 A1	18-01-2005
			JP 2005043361 A	17-02-2005
			KR 20050009952 A	26-01-2005
			US 2005014284 A1	20-01-2005
WO 9325309	A	23-12-1993	EP 0647161 A1	12-04-1995
			JP 7507488 T	24-08-1995
EP 1138372	A	04-10-2001	US 2001028601 A1	11-10-2001
US 5133392	A	28-07-1992	CA 2058494 C	15-11-1994
			DE 69205613 D1	30-11-1995
			DE 69205613 T2	04-04-1996
			EP 0508531 A2	14-10-1992
			HK 38396 A	15-03-1996
			IE 921150 A1	21-10-1992
			JP 3160357 B2	25-04-2001
			JP 5107158 A	27-04-1993
DE 3115568	A1	15-04-1982	BE 888457 A1	17-08-1981
			IT 1167734 B	13-05-1987
			JP 56163744 A	16-12-1981

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/053525

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 INV. G01N35/10 B01F11/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 G01N B01F

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 1 498 736 A (ORTHO CLINICAL DIAGNOSTICS INC [US]) 19. Januar 2005 (2005-01-19) Absatz [0012] - Absatz [0015] Absatz [0019] - Absatz [0020] Abbildungen 1a-1c	1-19
A	WO 93/25309 A (KAARTINEN NILO [FI]) 23. Dezember 1993 (1993-12-23) Seite 13, Zeile 29 - Seite 14, Zeile 6 Seite 16, Zeile 23 - Seite 17, Zeile 14 Abbildungen 10,15,16	1-19
A	EP 1 138 372 A (ARKRAY INC [JP]) 4. Oktober 2001 (2001-10-04) Abbildungen 1(A)-1(F)	1-19
	----- -/--	

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
12. Juli 2007	23/07/2007
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Timonen, Tuomo

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/053525

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 133 392 A (HAMANN J ERIC [US] ET AL) 28. Juli 1992 (1992-07-28) Spalte 4, Zeile 3 - Zeile 11 Abbildungen 2A-2F -----	1-19
A	DE 31 15 568 A1 (BECKMAN INSTRUMENTS INC [US]) 15. April 1982 (1982-04-15) Abbildung 2 -----	1-19

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/053525

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 1498736	A	19-01-2005	AU 2004203237 A1	03-02-2005
			CA 2474529 A1	18-01-2005
			JP 2005043361 A	17-02-2005
			KR 20050009952 A	26-01-2005
			US 2005014284 A1	20-01-2005
WO 9325309	A	23-12-1993	EP 0647161 A1	12-04-1995
			JP 7507488 T	24-08-1995
EP 1138372	A	04-10-2001	US 2001028601 A1	11-10-2001
US 5133392	A	28-07-1992	CA 2058494 C	15-11-1994
			DE 69205613 D1	30-11-1995
			DE 69205613 T2	04-04-1996
			EP 0508531 A2	14-10-1992
			HK 38396 A	15-03-1996
			IE 921150 A1	21-10-1992
			JP 3160357 B2	25-04-2001
			JP 5107158 A	27-04-1993
DE 3115568	A1	15-04-1982	BE 888457 A1	17-08-1981
			IT 1167734 B	13-05-1987
			JP 56163744 A	16-12-1981