



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 818**

51 Int. Cl.:

**G01N 1/28** (2006.01)

**G01N 15/06** (2006.01)

**G01N 33/48** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08841470 .1**

96 Fecha de presentación : **07.10.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2198259**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.06.2010**

54

Título: **Procedimiento de ajuste automatizado de la densidad celular para la realización de un placa de análisis.**

30

Prioridad: **09.10.2007 FR 07 58160**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**13.07.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**13.07.2011**

73

Titular/es: **NOVACYT**  
**13 avenue de Morane Saulnier**  
**78140 Vélizy Villacoublay, FR**

72

Inventor/es: **Peltier, Eric**

74

Agente: **Curell Aguilá, Marcelino**

ES 2 362 818 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Procedimiento de ajuste automatizado de la densidad celular para la realización de una placa de análisis.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de realización de una placa de análisis celular del tipo que comprende una dispersión celular a analizar dispuesta en una placa de análisis, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- extraer una disolución celular a partir de un frasco de extracción,
- 10 - disponer dicha disolución extraída en una cámara de decantación dispuesta por encima de la placa de análisis,
- dejar decantar la disolución con el fin de obtener la dispersión celular en la placa de análisis.

15 La invención se refiere asimismo a un dispositivo de realización de una placa de análisis celular que permite realizar dicho procedimiento.

Se realizan unas placas de análisis celular por ejemplo con el fin de establecer unos diagnósticos médicos. Para ello, se efectúa un depósito de células en una lámina de vidrio.

20 Las células son extraídas por medio de un cepillo de extracción, por ejemplo mediante frotis, y después el cepillo se dispone en un frasco de extracción en el que las células son puestas en disolución. Una parte de la disolución celular se extrae a continuación y se dispone en una cámara de decantación situada por encima de la lámina de vidrio. Después de la decantación y de la absorción del líquido de mezcla celular, se obtiene una dispersión celular sobre la lámina de vidrio, lo cual forma la placa de análisis. Dicho procedimiento se describe, por ejemplo, en el documento FR 2 792 333.

Es deseable obtener una dispersión de densidad constante en células y sobre todo tener la presencia de células suficientes para obtener un diagnóstico pertinente. En algunas aplicaciones tales como el frotis de detección del cáncer del cuello uterino, este número de células debe satisfacer a la clasificación de Bethesda, que es una clasificación para estandarizar el resultado de diagnóstico de los frotis, y cada dispersión debe así comprender más de 5.000 células. Un ajuste del número de células extraídas puede por lo tanto resultar necesario si la densidad de las células no es suficiente en la disolución.

35 Actualmente, la medición de la densidad celular se realiza sobre las células presentes en el frasco de extracción. Es decir que se realiza la extracción y después se deposita en el frasco en el que se pone en disolución y en el que se realiza la medición de densidad con el fin de determinar qué cantidad de suspensión celular de las células es necesario añadir sobre la placa de análisis para obtener suficientes en el momento de la lectura de diagnóstico. La medición de la densidad se realiza, por ejemplo, mediante nefelometría, es decir mediante la medición de la difracción de la luz que atraviesa el frasco.

40 Sin embargo, este tipo de medición en el frasco adolece de varios inconvenientes. En primer lugar, la medición es poco fiable puesto que el cepillo de extracción presente en el frasco o la etiqueta administrativa de identificación del frasco pegada sobre éste pueden perturbar esta medición. Por otro lado, el procedimiento de medición se refiere a todos los elementos celulares presentes en el frasco, tales como las células epiteliales, los hematíes, las células inflamatorias, etc., sin ninguna distinción, y no permite una medición selectiva de las células representativas y pertinentes para el diagnóstico de la extracción. Por último, si la cantidad de suspensión celular se ajusta directamente durante la extracción en el frasco para obtener inmediatamente una placa de análisis de densidad celular óptima, no existe ninguna automatización completa del procedimiento que queda abierto, ni tampoco ningún seguimiento de la calidad que permite editar una relación que menciona la baja densidad celular de la disolución presente inicialmente en el frasco de extracción y su corrección sobre la placa de análisis mediante el enriquecimiento secundario.

Otros documentos: EP-A-1 775 571, WO 87107024 y WO 99/44743 implican unas mediciones ópticas pero en un contexto diferente.

55 La invención prevé evitar estos inconvenientes proponiendo un procedimiento de realización de una placa de análisis del tipo citado anteriormente que permita una medición de la densidad celular fiable, pertinente y que permita un seguimiento de calidad en caso de correcciones.

60 Para ello, la invención se refiere a un procedimiento de realización de una placa de análisis del tipo citado anteriormente, en el que dicho procedimiento se caracteriza porque comprende una etapa de medición de la densidad celular de la disolución extraída, siendo dicha medición realizada en la cámara de decantación.

65 Según otras características del procedimiento:

- el procedimiento de realización comprende una etapa de comparación de la densidad celular medida a una densidad umbral;
- 5 - el procedimiento de realización comprende una etapa de extracción de una disolución celular suplementaria y de adición de esta disolución extraída a la cámara de decantación si la densidad celular medida es inferior a la densidad umbral;
- la densidad umbral es sustancialmente igual a 5.000 células por dispersión celular;
- 10 - la densidad celular se mide mediante difracción de la luz o mediante recuento de las células sobre una superficie determinada; y
- la etapa de medición de la densidad celular comprende una etapa de iluminación de la cámara de decantación.

15 La invención se refiere asimismo a un dispositivo de realización de una placa de análisis celular del tipo que comprende por lo menos un frasco de extracción celular, una cámara de decantación dispuesta en una placa de análisis, unos medios de extracción de una disolución celular a partir del frasco de extracción y de introducción de dicha disolución a la cámara de decantación, caracterizado porque comprende además unos medios de medición de la densidad celular en la cámara de decantación, de manera que se realiza una placa de análisis tal como la definida  
20 anteriormente.

Este dispositivo comprende además unos medios de medición de la densidad celular en la cámara de extracción, de manera que se realiza una placa de análisis según un procedimiento tal como el descrito anteriormente.

25 Según otras características del dispositivo:

- los medios de medición de la densidad celular comprenden unos medios de iluminación de la cámara de decantación y unos medios de medición de la difracción de la luz o de recuento de células en una superficie determinada;
- 30 - los medios de medición de la difracción de la luz o de recuento de células sobre una superficie determinada comprenden una cámara, y
- la cámara está soportada por un brazo móvil, desplazándose dicho brazo por encima de una pluralidad de  
35 cámaras de decantación dispuestas por encima de una pluralidad de placas de análisis.

Otros aspectos y ventajas de la invención se pondrán más claramente de manifiesto a partir de la descripción siguiente, dada a título de ejemplo y realizada haciendo referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

- 40 - la figura 1 es una representación esquemática en perspectiva parcial de un dispositivo de realización de una placa de análisis según un modo de realización de la invención,
- la figura 2 es una representación esquemática del dispositivo de la figura 1 durante una etapa de medición de la densidad celular de una disolución presente en una cámara de decantación.

45 En aras de la simplificación, el dispositivo de realización de una placa de análisis no ha sido representado en su totalidad en las figuras.

50 Este dispositivo comprende generalmente por lo menos un frasco de extracción celular (no representado), por lo menos una cámara de decantación 2 dispuesta en una placa de análisis 4, unos medios de extracción (no representados) de una disolución celular a partir del frasco de extracción y de introducción de dicha disolución a la cámara de decantación 2.

55 El frasco de extracción y la cámara de decantación 2 están dispuestos en un plato 6 provisto de por lo menos un alojamiento de recepción de una placa de análisis 4 debajo de la cámara de decantación 2. En la práctica, una pluralidad de cámaras de decantación 2 y de placas de análisis 4 está prevista en unas cavidades correspondientes del plato 6, para unas realizaciones en serie de placas de análisis.

60 La cámara de decantación 2 es un recipiente sin fondo, de manera que el contenido vertido a la cámara se vierte en la placa de análisis tal como se describe por ejemplo en el documento FR-2 792 333. La placa de análisis 4 es una lámina de vidrio clásica para este tipo de aplicaciones.

65 Los medios de extracción y de introducción comprenden por ejemplo una pipeta robotizada (no representada), apta para desplazarse desde el frasco de extracción hasta una cámara de decantación 2, y accionada para extraer contenido a partir del frasco y verterlo a la cámara 2. Según un modo de realización, la pipeta está prevista además para extraer un líquido de dilución de la disolución celular extraída en el frasco y para mezclar este líquido con la

disolución en la pipeta con el fin de diluir la disolución extraída y verterla a la cámara de decantación 2.

Se recoge un frotis y se deposita en el frasco de extracción. Allí, éste sufre un tratamiento con el fin de seleccionar las células pertinentes para el análisis, tal como es conocido. La disolución obtenida se extrae mediante los medios de extracción y puede ser diluida y después vertida de nuevo a la cámara de decantación 2 de manera automatizada.

La disolución se deja decantar en la cámara 2 con el fin de obtener una dispersión celular sobre la placa de análisis 4 mediante absorción del líquido de la disolución.

La placa de análisis comprende en una parte extrema un medio de identificación por ejemplo del tipo código de barras 8. Según otros modos de realización, los medios de identificación son diferentes, por ejemplo una etiqueta que contiene unas informaciones o un chip electrónico del tipo chip RFID cuyo contenido puede ser leído a distancia por unos medios de lectura.

Un brazo 10 está móvil por encima del plato 6. Este brazo soporta una cámara de vídeo 12 dispuesta para grabar imágenes del plato 6, es decir del contenido de la cámara de decantación 2 y de la placa de análisis 4, tal como se representa mediante las flechas F y F' de las figuras 1 y 2 respectivamente.

Durante una primera etapa representada en la figura 1, el brazo 10 está dispuesto de tal manera que la cámara de vídeo 12 está dirigida hacia el código de barras 8 y lee las informaciones de identificación de la placa de análisis 4. Estas informaciones son por ejemplo transmitidas a un sistema de tratamiento informático que asegura el seguimiento de calidad de una pluralidad de placas de análisis y que reúne unas informaciones sobre la dispersión celular dispuesta sobre esta placa.

Según el modo de realización representado en las figuras, la cámara de vídeo 12 constituye asimismo unos medios de medición de la densidad celular de la disolución extraída presente en la cámara de decantación.

Para ello, el brazo 10 desciende, tal como se representa por la flecha F" de la figura 2, y se desplaza encima de la cámara de decantación 2 con el fin de realizar la adquisición de las imágenes del contenido de esta cámara, tal como se representa por la flecha F'. La amplitud de este desplazamiento puede ir hasta el contacto de la cámara de decantación con el fin de obtener una estanqueidad a la luz realizando una cámara oscura con el fin de optimizar la calidad de la adquisición de las imágenes.

Los medios de medición de la densidad celular comprenden además unos medios de iluminación de la cámara de decantación con el fin de permitir que la cámara 12 efectúe la medición de densidad. Según el modo de realización representado en las figuras, el brazo 10 comprende una fuente luminosa 14 dispuesta en la parte extrema de una lámina metálica elástica 16. Cuando el brazo 10 está bajado, la fuente luminosa 14 entra en contacto con el borde de la placa de análisis 4, y después cuando el brazo 10 se desplaza por encima de la cámara de decantación 2, la lámina 16 se deforma de manera que mantiene la fuente luminosa 14 en su sitio, tal como se ha representado en la figura 2. El desplazamiento del brazo 10 permite aplicar la fuente luminosa 14 contra la placa de análisis 2 con el fin de obtener una transmisión de luz óptima. La fuente luminosa 14 difunde entonces luz en la placa de análisis, tal como se ha representado mediante las flechas F'" de la figura 2. La iluminación de la cámara de decantación 2 se lleva a cabo por lo tanto lateralmente. La fuente luminosa 14 es por ejemplo un diodo electroluminiscente (LED). Estos medios de iluminación son particularmente ventajosos, puesto que son independientes del plato 6 y son fáciles de mantener. Además, estos medios son poco costosos de realizar.

La cámara 12 mide la densidad celular mediante la medición de la difracción de la luz por la disolución celular en la cámara de decantación o mediante recuento de células en una superficie determinada. Estos métodos de medición son conocidos y no se detallarán en la presente memoria. La cámara de vídeo 12 presenta una resolución celular suficiente para este tipo de mediciones.

Según otro modo de realización no representado, una cámara de vídeo específica para la medición de la densidad está prevista además de la cámara 12 de vídeo de lectura de los medios de identificación 8. La cámara de vídeo específica, soportada asimismo por el brazo 10, es entonces más competente que la cámara de vídeo 12, en particular en términos de resolución, y está específicamente dedicada a la medición de la densidad celular.

Según otros modos de realización no representados, la iluminación de la cámara de decantación 2 se realiza de manera diferente. Así, se prevé por ejemplo unas guías de luz, por ejemplo de tipo fibras ópticas, dispuestas en el plato 6 de manera que están en contacto con los bordes de la o de las placas de análisis 4 con el fin de iluminar lateralmente las cámaras de decantación 2. Como alternativa, una fuente luminosa está dispuesta en el brazo 10 de manera que ilumina la cámara de decantación 2 por encima. La fuente luminosa está entonces colocada y dispuesta para evitar los problemas de reflexiones parásitas en la superficie de la disolución extraída presente en la cámara de decantación 2. Según otra alternativa, la fuente luminosa ilumina la cámara de decantación 2 por debajo. El plato está entonces adaptado y presenta unos orificios de visualización que permiten dejar pasar la luz.

5 La densidad medida por los medios descritos anteriormente se compara con una densidad umbral, sustancialmente igual a la densidad mínima a tener para obtener un análisis pertinente de la dispersión celular. Esta comparación se efectúa por ejemplo mediante el sistema de tratamiento informático descrito anteriormente. Según un modo de realización, la densidad umbral es sustancialmente igual a 5.000 células por dispersión celular, tal como se prescribe por la clasificación de Bethesda.

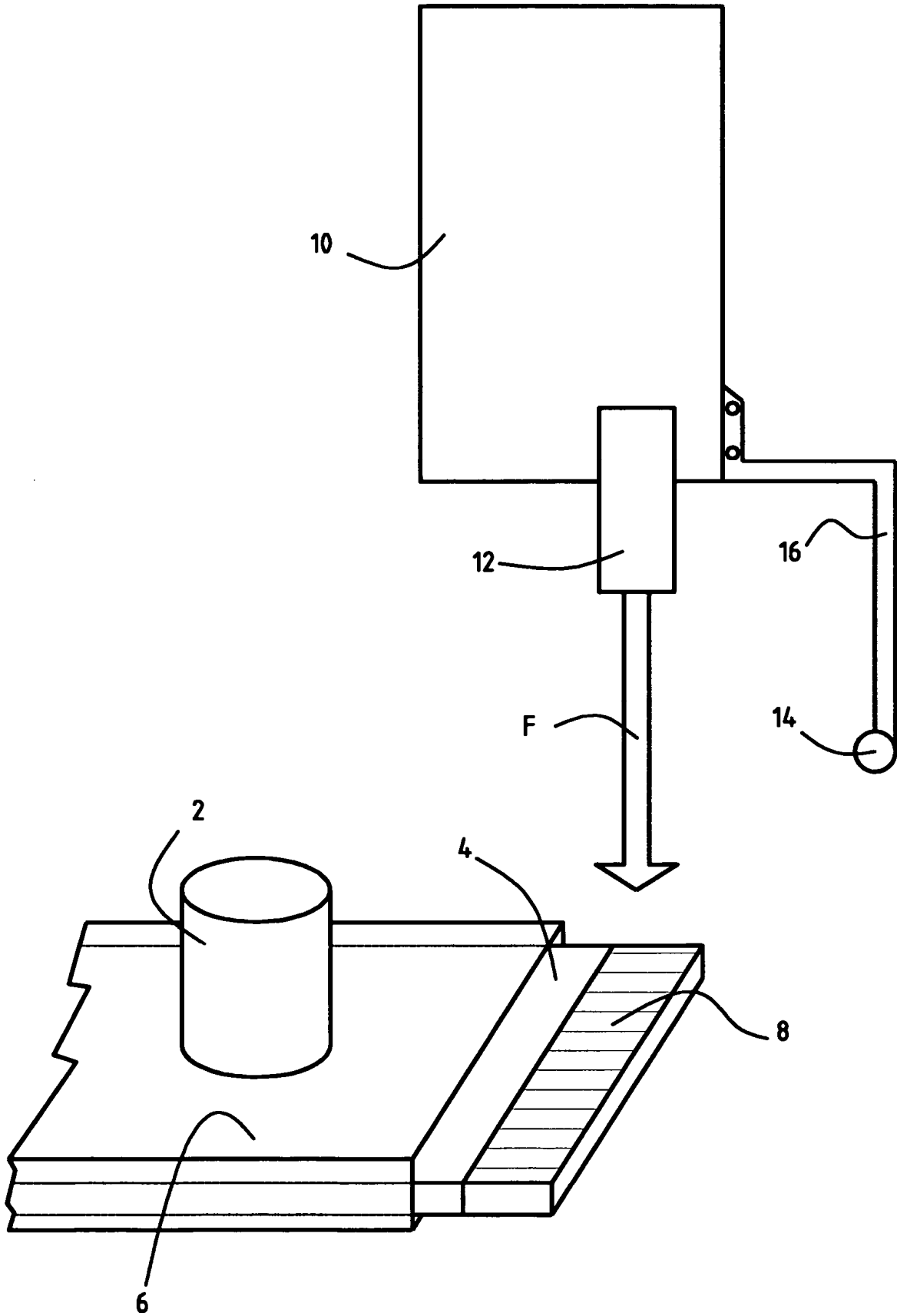
10 Si la densidad medida es inferior a la densidad umbral, el procedimiento de realización de placas de análisis comprende una etapa suplementaria de ajuste de la densidad celular de la dispersión. Los medios de extracción extraen un volumen de una disolución celular suplementaria del frasco de extracción y la vierten a la cámara de decantación 2 con el fin de añadir unas células a la dispersión celular después de la decantación. El volumen suplementario a extraer se calcula previamente, por ejemplo, mediante el sistema de tratamiento informático, y se regulan los medios de extracción automatizados en consecuencia.

15 La información, según la cual se ha efectuado un ajuste de la densidad, se registra mediante el sistema de tratamiento informático en relación con la identidad de la placa de análisis 4 con el fin de permitir un seguimiento de calidad de la extracción celular.

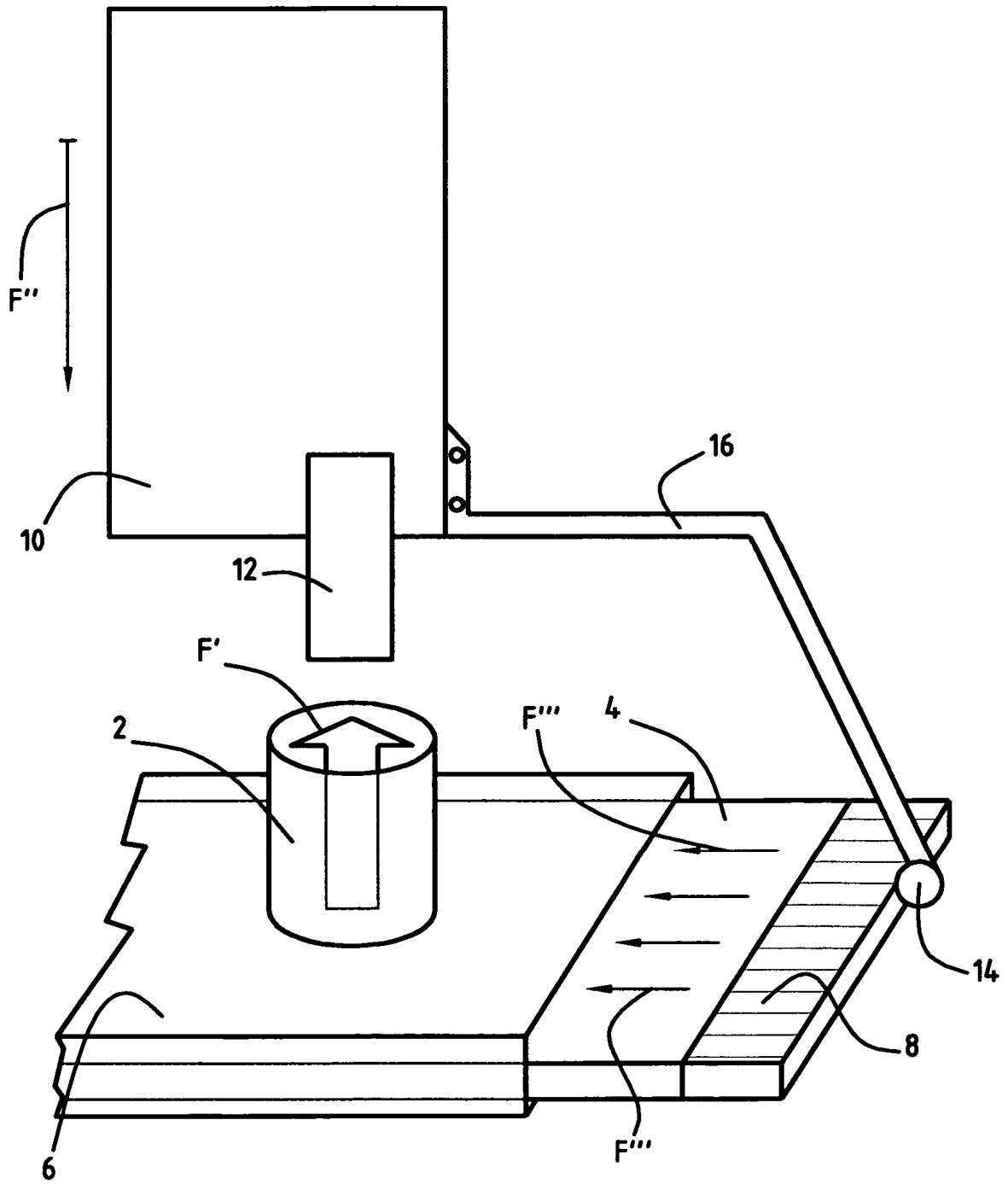
20 El procedimiento y el dispositivo descritos anteriormente permiten obtener una medición de la densidad fiable puesto que se realiza directamente en la cámara de decantación 2 y no en el frasco de extracción. Además, la medición se refiere sólo a las células pertinentes para el análisis. La medición permite asimismo asegurar un seguimiento de calidad que permite editar un informe que menciona la baja densidad celular de la disolución presente en el frasco de extracción y su corrección sobre la placa de análisis mediante enriquecimiento secundario.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Procedimiento de realización de una placa de análisis celular (4) que comprende una dispersión celular a analizar dispuesta sobre una placa de análisis (4), comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:
- extraer una disolución celular a partir de un frasco de extracción,
  - disponer dicha disolución extraída en una cámara de decantación (2) dispuesta por encima de la placa de análisis (4),
  - 10 - dejar decantar la disolución con el fin de obtener la dispersión celular en la placa de análisis (4).
- estando dicho procedimiento caracterizado porque comprende una etapa de medición de la densidad celular de la disolución extraída, siendo dicha medición realizada en la cámara de decantación (2).
- 15 2. Procedimiento de realización según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende una etapa de comparación de la densidad celular medida con una densidad umbral.
- 20 3. Procedimiento de realización según la reivindicación 2, caracterizado porque comprende una etapa de extracción de una disolución celular suplementaria y de adición de esta disolución extraída a la cámara de decantación (2) si la densidad celular medida es inferior a la densidad umbral.
- 25 4. Procedimiento de realización según la reivindicación 2 ó 3, caracterizado porque la densidad umbral es sustancialmente igual a 5.000 células por dispersión celular.
5. Procedimiento de realización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque la densidad celular se mide mediante difracción de la luz o mediante recuento de las células sobre una superficie determinada.
- 30 6. Procedimiento de realización según la reivindicación 5, caracterizado porque la etapa de medición de la densidad celular comprende una etapa de iluminación de la cámara de decantación (2).
- 35 7. Dispositivo de realización de una placa de análisis celular, que comprende por lo menos un frasco de extracción celular, una cámara de decantación (2) dispuesta en una placa de análisis (4), unos medios de extracción de una disolución celular a partir del frasco de extracción y de introducción de dicha disolución a la cámara de decantación (2), caracterizado porque comprende además unos medios de medición de la densidad celular en la cámara de decantación (2), de manera que se realiza una placa de análisis (4) de acuerdo con un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
- 40 8. Dispositivo según la reivindicación 7, caracterizado porque los medios de medición de la densidad celular comprenden unos medios de iluminación de la cámara de decantación (2) y unos medios de medición de la difracción de la luz o de recuento de células en una superficie determinada.
- 45 9. Dispositivo según la reivindicación 8, caracterizado porque los medios de medición de la difracción de la luz o de recuento de células sobre una superficie determinada comprenden una cámara de vídeo (12).
- 50 10. Dispositivo según la reivindicación 9, caracterizado porque la cámara de vídeo está soportada por un brazo móvil (10), desplazándose dicho brazo (10) por encima de una pluralidad de cámaras de decantación (2) dispuestas por encima de una pluralidad de placas de análisis (4).
11. Dispositivo según la reivindicación 10, caracterizado porque el brazo soporta además una fuente luminosa (14) dispuesta en la parte extrema de una lámina metálica elástica (16) fijada al brazo (10), constituyendo dicha fuente luminosa unos medios de iluminación lateral de la cámara de decantación (2).



**FIG.1**



**FIG.2**