

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 344**

51 Int. Cl.:
G01N 1/38 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04800390 .9**
96 Fecha de presentación: **24.11.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1687612**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.08.2006**

54 Título: **UN MÉTODO Y UN DISPOSITIVO PARA DEFINIR UN VOLUMEN PEQUEÑO DE UNA MUESTRA DE LÍQUIDO.**

30 Prioridad:
26.11.2003 SE 0303157

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
30.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
30.12.2011

73 Titular/es:
BOULE MEDICAL AB
P.O. BOX 42056
126 13 STOCKHOLM, SE

72 Inventor/es:
BERNDTSSON, Ingemar

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 371 344 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

Un método y un dispositivo para definir un volumen pequeño de una muestra de líquido

La presente invención se refiere a un método y a un dispositivo para definir un pequeño volumen de una muestra de líquido separándolo de un volumen indefinido relativamente grande de dicha muestra y que resulta útil, por ejemplo, en análisis de sangre, para proporcionar un volumen definido con precisión de una muestra de sangre.

En análisis o pruebas de sangre, es de crucial importancia definir un volumen preciso de una muestra de sangre, puesto que tal volumen definido con precisión se utiliza posteriormente para ciertas pruebas. El volumen definido de manera precisa de la muestra de sangre se diluye normalmente mediante un volumen definido con precisión de un agente diluyente o lisogénico, con objeto de tener un desleimiento o dilución generalmente de 1:400 cuando se refiere a glóbulos blancos y generalmente de 1:40.000 cuando se refiere a contar glóbulos rojos, en el último caso la dilución normalmente se lleva a cabo en dos etapas. Es evidente, que las mediciones de los volúmenes de muestra y de los volúmenes de líquido de dilución se deben realizar de un modo preciso y repetible de tal manera que no solo se pueda garantizar siempre un grado de dilución correcto sino también se asegure una mezcla minuciosa y uniforme de los dos volúmenes. Aparentemente, la medición precisa de los volúmenes de muestra es la operación más crítica en el procedimiento de dilución, dado que los volúmenes implicados son extremadamente pequeños comparados los correspondientes volúmenes de diluyente. Un volumen de muestra típico en el estado de la técnica de dispositivos de análisis de sangre es de 20 μ l.

El estado de la técnica de dispositivo utiliza frecuentemente válvulas giratorias para definir un volumen de muestra a diluirse. En los documentos WO 98/22797, WO 99/01742 y WO 03/44488 se describen ejemplos de tales dispositivos. Una válvula giratoria comprende un cuerpo de válvula cilíndrico recibido de manera giratoria en el interior de una abertura cilíndrica correspondiente de un alojamiento de válvula. Entre posiciones opuestas en la periferia del cuerpo de válvula se prolonga un canal de medición que tiene un volumen definido. Al hacer girar el cuerpo de válvula entre posiciones definidas, los extremos opuestos del canal de medición se ponen en comunicación con las embocaduras de varios canales en la abertura cilíndrica del cuerpo de válvula. De esta manera, en una posición giratoria del alojamiento de válvula, el canal de medición se puede llenar con el volumen definido de una muestra que fluye entre dos embocaduras opuestas de primer canal en la periferia interna de la apertura cilíndrica. Después de hacer girar hasta otra posición de giro, separando de ese modo el volumen definido de las dos embocaduras opuestas de primer canal y poniendo simultáneamente en comunicación los extremos opuestos del canal de medición con dos embocaduras opuestas de segundo canal en la periferia interior de la abertura cilíndrica que permiten lavar el canal de medición con un líquido diluyente con objeto de lograr una relación de dilución deseada.

Aunque funcionan bien, debido a su relativa complejidad, las válvulas rotativas no son convenientes para la producción masiva deseable para una producción económica de equipo de muestras de sangre desechables.

La presente invención pretende proporcionar un método simple y fiable para separar al menos un pequeño volumen definido de una muestra de líquido de un volumen indefinido relativamente grande de dicha muestra así como un dispositivo igualmente simple, fiable y barato para llevar a cabo el método, particularmente adaptado para producciones masivas reproducibles.

El método según la presente invención implica las operaciones de proporcionar en una superficie de un primer cuerpo al menos una cavidad que contenga dicho pequeño volumen definido; aplicando dicho volumen relativamente grande de dicha muestra sobre dicha superficie y dentro de dicha al menos una cavidad; desplazando relativamente dicho primer cuerpo y unos medios de raspado de modo que dichos medios de raspado pasen por dicha al menos una cavidad, raspando de este modo un volumen de dicho relativamente gran volumen de él, dejando dicho pequeño volumen definido en dicha al menos una cavidad.

El dispositivo según la presente invención para realizar el método incluye un primer cuerpo y un segundo cuerpo. En una superficie del mismo el primer cuerpo tiene al menos una cavidad (depresión, rebajo, muesca, cavidad, grabado, deformación) que contiene dicho volumen definido. El segundo cuerpo incluye un borde relativamente deslizante a lo largo de dicha superficie y sobre la cavidad, que de ese modo separa (rascando) de esa superficie un volumen excesivo de muestra, dejando el volumen definido dentro de la cavidad.

A continuación se describirán realizaciones de las presentes invenciones, haciéndose referencia a los dibujos que se acompañan en los que:

Las Figuras 1a y 1b son vistas de secciones en esquema que muestran el principio de un dispositivo según la invención mostradas en una primera y en una segunda posición respectivamente;

La Figura 2 es una vista en perspectiva que muestra en esquema una primera realización principal del dispositivo;

La Figura 3 es una vista similar que muestra una segunda realización principal del dispositivo;

La Figura 4 es una vista similar que muestra una tercera realización principal del dispositivo;

Las Figuras 5a y 5b, son vistas similares a las de las Figuras 1a y 1b, pero mostrando también un elemento de cierre entre los dos cuerpos;

La Figura 5c es una ampliación de una porción de la Figura 5b;

La Figura 6 es una vista en planta que muestra una realización de un elemento de cierre

5 La Figura 7a es una vista similar a la de Figura 1, pero mostrando una realización alternativa del dispositivo que tiene un cuerpo separado para recibir una muestra;

La Figura 7b es una vista en planta del cuerpo separado de la Figura 7a;

Las Figuras 8a, 8b y 8c son vistas similares a las de las Figuras 1a y 1b, pero mostrando tres operaciones consecutivas en el funcionamiento de un dispositivo que tiene un raspador separado; y

10 Las Figuras 9a – 9e muestran varios ejemplos de configuraciones de cavidad y de diseños.

El principio de un dispositivo que realiza la presente invención se muestra en particular en las Figuras 1a y 1b.

Un primer cuerpo 10 tiene una superficie 11 en la que se dispone una cavidad 12 que tiene un volumen pequeño definido de una manera precisa. sobre la superficie 11 se aplica un volumen 13 indefinido, relativamente grande de una muestra, tal como una muestra de sangre, de tal manera que se asegura que la cavidad se llena con la muestra.

15 Un segundo cuerpo 14 tiene un borde 15 que esta en contacto con la superficie 11 del primer cuerpo. Los cuerpos 10 y 14 son relativamente deslizables a lo largo de la superficie 11 como se indica por una flecha A, de modo que el borde después de pasar la cavidad raspa o corta un volumen 16 de la muestra a lo largo de la superficie 11 dejando justo lo definido con exactitud, una pequeña muestra de volumen 17 en el interior de la cavidad 12. Esta situación se muestra en la Figura 1 b.

20 En la práctica, el segundo cuerpo 14 tiene una superficie 18 que empieza en el borde 15 y enfrentada y en contacto con la superficie 11 del primer cuerpo de manera hermética a fluidos. Con el fin de diluir el volumen 17 de muestra pequeña, definida con precisión, a través del segundo cuerpo se prolongan dos canales 19, 20 y se abren en su superficie 18 en posiciones que permiten o habilitan la comunicación respectiva de fluido con la cavidad 12 como se muestra en la Figura 1b. Los canales se muestran aquí para prolongarse de una manera que converge en forma de V hacia la superficie 18. Evidentemente, los canales se pueden prolongar en otras direcciones hacia la superficie 11 y la cavidad 12 situada dentro de la misma, incluyendo direcciones de canal mutuamente paralelas.

25 Los conductos 21, 22 indicados por líneas discontinuas conectan uno de los respectivos canales 19, 20 con uno de los respectivos receptáculos 23, 24. El receptáculo 23 se muestra en la Figura 1a para contener un volumen definido de un liquido 25, tal como un diluyente o un agente lisogénico. Cuando el primer y segundo cuerpos están en la posición relativa mostrada en la Figura 1b, el flujo desde el receptáculo 23 se dirigirá a través del conducto 21 al interior de la cavidad 12, enrasando de ese modo su volumen 17 de muestra y llevándolo a través del conducto 22 al interior del receptáculo 24 para proporcionar allí dentro un volumen de muestra diluida con una relación de dilución definida. El volumen de muestra diluida se puede llevar para que fluya de un lado a otro entre los dos receptáculos para asegurar la mezcla y dilución adecuadas, sin embargo los ensayos han mostrado que ya una fluencia
30 proporciona un resultado satisfactorio.

35 Dependiendo de la clase de ensayo a realizar y de la relación de dilución deseada, la cavidad puede tener típicamente un volumen comprendido entre 0,05 y 10 µl, incluso es muy posible proporcionar volúmenes de cavidad comprendidos, por ejemplo, entre 0,02 y 20 µl.

40 En la practica, puede ser útil proporcionar más de una cavidad en la superficie del cuerpo 10, por ejemplo una cavidad relativamente pequeña (por ejemplo, 0,05 µl) y una cavidad relativamente grande (por ejemplo, 10 µl), permitiendo de ese modo diluciones simultaneas en dos relaciones de dilución diferentes. Esta es la realización preferida de la invención en lo que se refiere a análisis de sangre.

En las Figuras 2 – 4 se muestran ejemplos de dispositivos que realizan esta posibilidad.

45 La realización de la Figura 2 comprende una carcasa 25 en forma de bloque (segundo cuerpo) que tiene situado dentro del mismo una muesca 26. Una corredera 27 (primer cuerpo) tiene en una superficie superior 28 una cavidad más pequeña 29 y una cavidad mayor 30. La muesca tiene un borde 31 que esta en estrecho contacto con la superficie 28. A través de la carcasa 25 se prolongan dos pares de canales convergentes 32, 33 y 34, 35 y se abren en una superficie de la muesca 26 en posiciones respectivas que corresponden a las posiciones de las cavidades 29, 30. Así, un volumen indefinido de una muestra, no mostrado, aplicado sobre la superficie 28 será cortado por el
50 borde 31 después de hacer deslizar la corredera 27 dentro de la muesca como se indica por una flecha B, dejando dos volúmenes de muestra definidos con precisión en las cavidades 29 y 30 para que se diluyan como se explicó respecto a las Figuras 1a y 1b.

- 5 En la Figura 3, el primer cuerpo es un cuerpo 36 en forma de disco que tiene en una superficie 37 una cavidad 38 más pequeña, y una cavidad 39 mayor. El segundo cuerpo es así mismo un cuerpo 40 en forma de disco que tiene en su circunferencia una porción recortada que proporciona acceso a la superficie 37 del primer cuerpo y también proporciona al menos un borde 41 que está en contacto con la superficie 37. A través del cuerpo 40 se prolongan dos pares de canales convergentes 42, 43 y 44, 45 y se abren en su superficie que esta en contacto con el cuerpo 37 en posiciones respectivas que corresponden a las posiciones de las cavidades 38, 39. Por tanto, un volumen indefinido, no mostrado, de una muestra aplicada sobre la superficie 37 se cortara por el borde 41 después de girar relativamente los dos cuerpos como se indica por una flecha C, que deja dos volúmenes de muestra definidos con precisión en las cavidades 38 y 39 para diluirse como se explicó en relación a las Figuras 1a y 1b.
- 10 En la Figura 4, el primer cuerpo es un cuerpo cilíndrico 46 que en su superficie periférica 47 tiene una cavidad menor 48 y una cavidad mayor 49. El segundo cuerpo es un cuerpo en forma de bloque 50 con una superficie 51 de forma cóncava en conformidad con la superficie cilíndrica 47. Un borde 52 de la superficie 51 esta en contacto con la superficie 47. Dos pares de canales convergentes 53, 54 y 55, 56 se prolongan a través del cuerpo 50 y se abren en su superficie 51 poniéndose en contacto con el cuerpo 47 en las posiciones respectivas correspondientes a las posiciones de las cavidades 48, 49. Por consiguiente un volumen indefinido, no mostrado de una muestra aplicada sobre la superficie 47 se cortará por el borde 52 después de girar relativamente los dos cuerpos como se indica por una flecha D, que deja en las cavidades 48 y 49 dos volúmenes de muestra definidos con precisión para que se diluyan como se explicó en relación a las Figuras 1a y 1b.
- 15 Con objeto de obtener el cierre adecuado, es conveniente proporcionar un elemento de cierre 57 entre los dos cuerpos 10 y 14 como se muestra en las Figuras 5a y 5b, y mas de cerca en la Figura 5c.
- 20 En esta realización, un borde 57' del elemento de cierre sustituye al borde 15 del segundo cuerpo 14 en la realización principal de las Figuras 1a y 1b, separando por tanto el volumen de muestra en el interior de la cavidad 12 del resto de la muestra. El elemento de cierre se recibe en el interior de un rebajo 58 formado de manera correspondiente en el cuerpo 14', proporcionando así un cierre alrededor de la cavidad y de las embocaduras de los conductos 19, 20.
- 25 El elemento de cierre tiene un orificio pasante o abertura 59 que proporciona una comunicación entre los dos canales 19, 20 y la cavidad 12 en la posición relativa de deslizamiento de los cuerpos 14' y 10 mostrados en las Figuras 5b y 5c.
- 30 El segundo cuerpo 14' tiene una porción recortada 60, que así guía y atrapa el mayor volumen de muestra 13 después de un movimiento relativo entre los dos cuerpos Figura 5b. La porción recortada termina en una hendidura relativamente estrecha, Figura 5c, justo por delante del borde activo 57' del elemento de cierre 57.
- 35 Como se puede ver adicionalmente en la Figura 5c, la porción 57" del elemento de cierre 57 situado entre la abertura 59 y el borde 57' tiene una anchura w que sobrepasa a la anchura d de la cavidad 12. De esta manera, se asegura que la embocadura de la cavidad está completamente cerrada a medida que la porción 57" del elemento de cierre pasa sobre ella después de un desplazamiento relativo de los dos cuerpos.
- 40 Como una alternativa a los elementos de cierre mostrados en la Figuras 5a y 5b que tienen paredes laterales dirigidas perpendicularmente hacia la superficie 11 del primer cuerpo 10, en la Figura 5c se muestra la abertura 59 para que tenga las paredes laterales 59' inclinadas aproximadamente según la inclinación de los canales 19 y 20.
- 45 La Figura 6 muestra una realización de un elemento de cierre 62 útil para el cierre de las dos cavidades, por ejemplo, la cavidad 29 relativamente pequeña y la cavidad 30 relativamente grande en la realización según la Figura 2. En la Figura 2, sólo para fines de ilustración, se muestran las posiciones de estas cavidades con líneas discontinuas. El elemento de cierre tiene dos aberturas 63 y 64. Con objeto de proporcionar el cierre de ambas aberturas durante la totalidad del desplazamiento relativo del cuerpo 27 y del elemento de cierre, el ultimo tiene esencialmente forma de L, es decir las aberturas se alinean pero el borde activo del elemento de cierre se divide en dos porciones de borde 62', 62" de esta manera las porciones respectivas del elemento de cierre situadas entre las aberturas y las porciones de borde tienen diferentes anchuras $W1$ y $W2$, respectivamente, siendo ambas mayores que las respectivas anchuras de cavidad $d1$, $d2$, respectivamente.
- 50 En la Figura 7a, entre el primer cuerpo 10 y el segundo cuerpo 14, se sitúa un cuerpo 65 separado de manera deslizantemente desplazable. En su superficie 65a enfrentada al segundo cuerpo 14 tiene una abertura 66 para recibir una muestra que a través de un canal 67 se comunica con una cavidad 68 para contener una muestra en su superficie 65b que se enfrenta al primer cuerpo 10. Por tanto, al menos una porción de, por ejemplo, una muestra de sangre aplicada en el interior de la abertura 66 se transferirá al interior de la cavidad 67. A través del cuerpo 65 se prolonga un orificio pasante 69.
- 55 Después de un movimiento relativo del cuerpo 65 y de los cuerpos primero y segundo, una porción del volumen de muestra contenida dentro de la cavidad 68 para mantener una muestra se atrapará dentro de la cavidad 12 en el primer cuerpo 10, llenándolo completamente. Un borde trasero 68' de la cavidad 68 actuará como un borde de raspado para asegurar que las cantidades de muestra sobrantes se retiran del volumen de muestra a ser tratado con

más detalle. El orificio pasante 69 se proporciona para la comunicación entre los canales 19, 20 y la cavidad 12. Aquí se debe hacer notar que las dimensiones relativas entre las diversas posiciones mostradas y descritas son solo para fines ilustrativos.

5 En la realización mostrada en las Figuras 8a – 8c, se proporciona un raspador 70 separado que tiene un borde raspador 70' y se utiliza para raspar la muestra sobrante de la superficie 11 alrededor de la cavidad 12. En esta realización, los dos cuerpos 10 y 14 están inicialmente separados entre sí y durante la operación de raspado, Figuras 8a y 8b. Después de finalizar la operación de raspado los dos cuerpos se aproximan entre si a lo largo de una trayectoria arqueada como se indica por la flecha E en la Figura 8c a fin de llevar los cuerpos a una posición para llevar a cabo la operación de lavado.

10 La Figura 9 muestra varias formas y configuraciones de cavidad. La Figura 9a muestra una forma en parte esférica. La Figura 9b muestra un diseño de una pluralidad de depresiones esencialmente circulares, la Figura 9c muestra una depresión cuadrada o piramidal, la Figura 9d muestra varias ranura paralelas y la Figura 9e muestra una cavidad rectangular formada mediante, por ejemplo, vaciado por aguafuerte, chorro de arena, corte o un método similar de retirada de material.

15

REIVINDICACIONES

- 1.- Un método para separar al menos un pequeño volumen definido de una muestra de líquido de un volumen indefinido relativamente grande de dicha muestra, caracterizado por las operaciones de:
- 5 - proporcionar en una superficie de un primer cuerpo al menos una cavidad con dicho pequeño volumen definido;
- aplicar dicho volumen relativamente grande de dicha muestra sobre dicha superficie y dentro de al menos una cavidad;
- 10 - desplazar relativamente dicho primer cuerpo y unos medios de raspado de modo que dichos medios de raspado pasen dicha al menos una cavidad, rascando por consiguiente un volumen de dicha superficie de dicho volumen relativamente grande y dejando dicho pequeño volumen definido en dicha al menos una cavidad.
- 2.- El método según la reivindicación 1, caracterizado porque dichos medios de raspado es un borde de un segundo cuerpo deslizable con respecto a dicho primer cuerpo
- 3.- El método según la reivindicación 1, caracterizado porque antes de que se aplique a dicha superficie dicho volumen relativamente grande de dicha muestra se aplica a una superficie receptora de muestra
- 15 4.- El método según la reivindicación 3, caracterizado porque dicho volumen relativamente grande de dicha muestra se aplica a dicha superficie poniendo en contacto dicha superficie receptora de muestra con dicha superficie.
- 5.- El método según la reivindicación 1, para diluir dicho volumen definido de dicha muestra, caracterizado por la operación de poner en contacto dicho pequeño volumen definido con un flujo de fluido diluyente que pasa por dicha al menos una cavidad.
- 20 6.- Un dispositivo que define un volumen de muestra para separar al menos un pequeño volumen definido de una muestra de líquido de un volumen indefinido relativamente grande de dicha muestra, incluyendo dicho dispositivo un primer cuerpo (10; 27; 36; 46) y un segundo cuerpo (14; 25;40; 50) desplazables entre si, caracterizado porque:
- 25 - dicho primer cuerpo (10; 27; 36; 46) tiene al menos una cavidad (12; 30; 39; 49) en una superficie (11; 28; 37; 47) del mismo, teniendo dicha al menos una cavidad dicho volumen definido; y
- dicho segundo cuerpo (14; 25; 40; 50; 14'; 70) incluye un borde (15; 31; 41; 52; 57'; 70') que se puede deslizar a lo largo de dicha superficie y sobre dicha superficie bajo un desplazamiento relativo de dichos cuerpos;
- 30 - la está disposición de tal manera que un volumen excesivo de dicho volumen indefinido de dicha muestra, después de depositar dicho volumen indefinido de dicha muestra sobre dicha superficie, se separa de dicho volumen indefinido bajo dicho desplazamiento relativo, dejando por consiguiente dentro de dicha cavidad un volumen de dicha muestra igual a dicho volumen definido.
- 7.- El dispositivo según la reivindicación 6, caracterizado porque dicho borde es un borde (15) del otro de dichos cuerpos (14).
- 8.- El dispositivo según la reivindicación 6, caracterizado porque dicho borde es un borde (57') de un medio de cierre (57) llevado por el otro de dichos cuerpos (14')
- 35 9.- El dispositivo según la reivindicación 8, caracterizado porque el otro de dichos cuerpos lleva dicho medio de cierre (57) en una superficie del mismo enfrentada a dicha superficie de dicho primer cuerpo (10).
- 10.- El dispositivo según la reivindicación 9, caracterizado porque dichos medios de cierre tienen una abertura situada de manera enfrentada a dicha cavidad (12) en una posición deslizante definida respecto a dichos dos cuerpos.
- 40 11.- El dispositivo según la reivindicación 10, caracterizado porque una porción de dichos medios de cierre (57) situada entre dicha abertura y dicho borde (57') de los mismos tiene una anchura que excede la dicha cavidad (12).
- 12.- El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11 adaptado para diluir dicho pequeño volumen definido de dicha muestra, caracterizado por los medios (19, 20) para dirigir un líquido (25) al interior y al exterior de dicha cavidad (12).
- 45 13.- El dispositivo según la reivindicación 12, caracterizado porque dichos medios incluyen medios de conducción enfrentados a dicha al menos una cavidad (12) en una posición deslizante definida respecto a dichos cuerpos (10, 14; 10, 14').
- 14.- El dispositivo según la reivindicación 13, caracterizado porque dichos medios de conducción incluyen medios de

un primer canal (19) dirigidos hacia dicha cavidad (12) y medios de un segundo canal (20) dirigidos desde aquella.

15.- El dispositivo según la reivindicación 14, caracterizado por unos primeros medios de receptáculo (23) para un líquido conectado a dichos primeros medios de conducción (19, 21) y por unos segundos medios de receptáculo (24) para diluir una muestra conectada a dichos segundos medios de conducción (20, 22)

- 5 16.- El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 15, particularmente para realizar análisis de sangre, caracterizado por dos cavidades (29, 30) que tienen volúmenes diferentes.

1/5

Fig. 1a

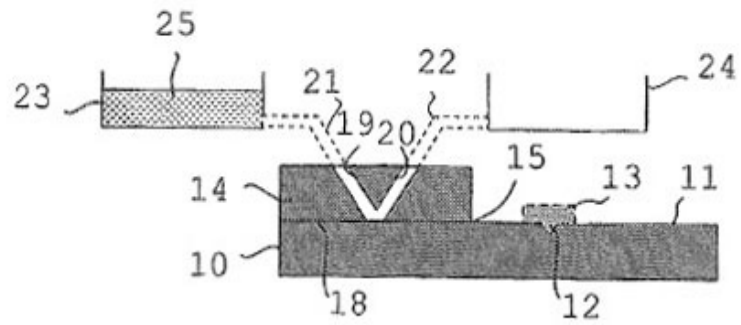
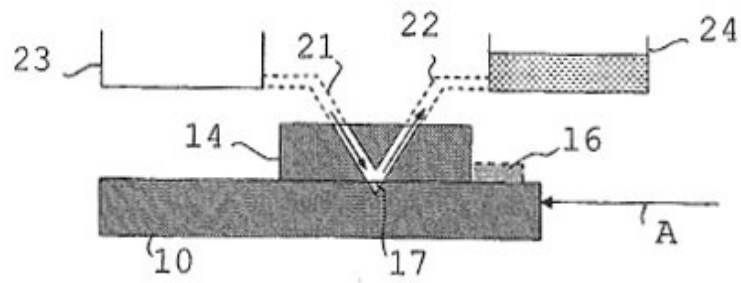
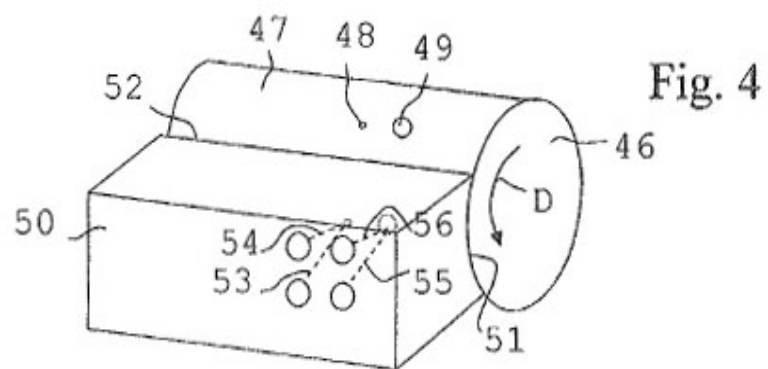
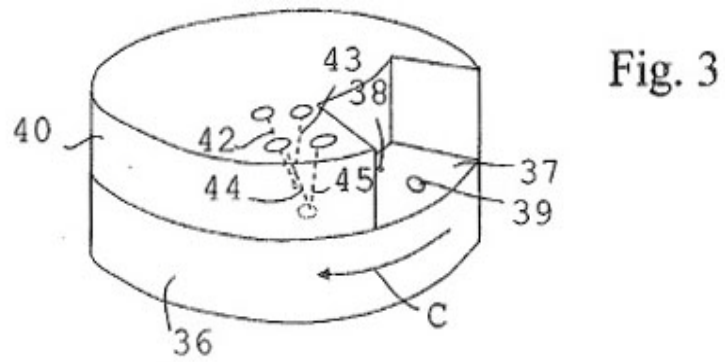
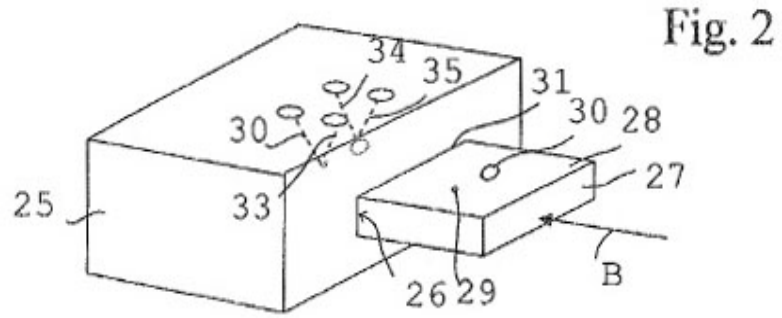
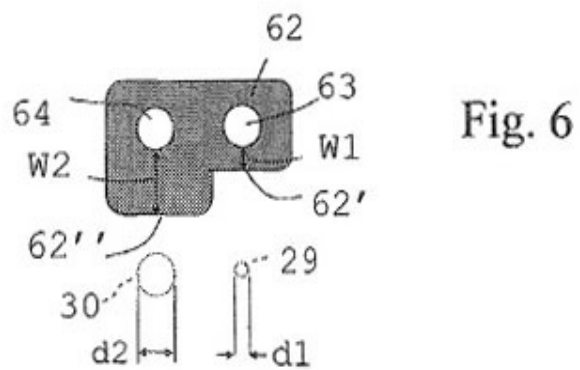
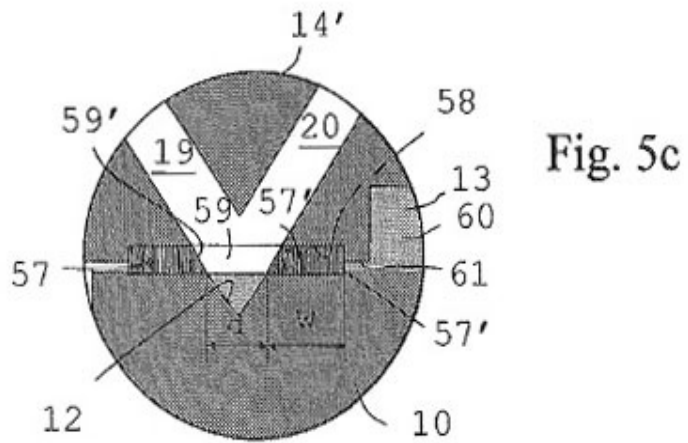
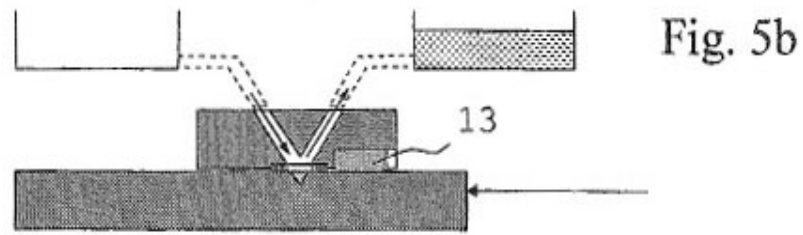
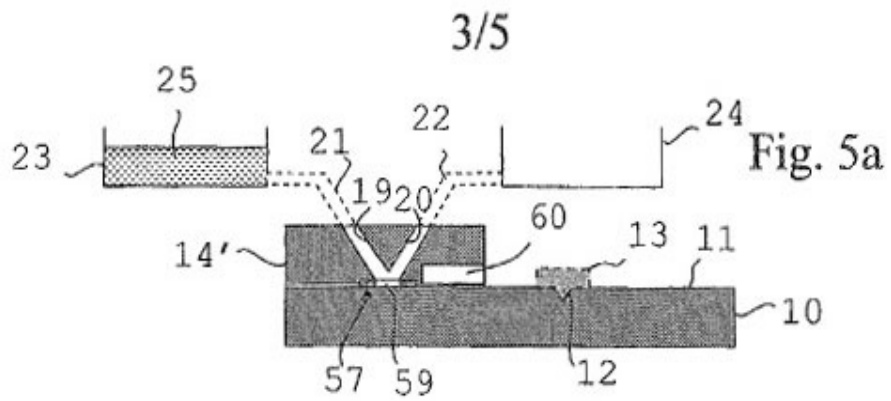


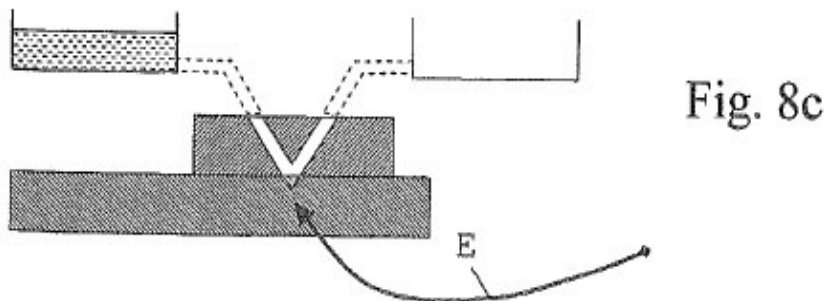
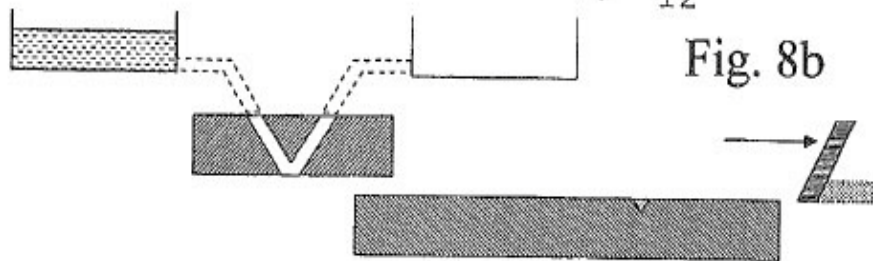
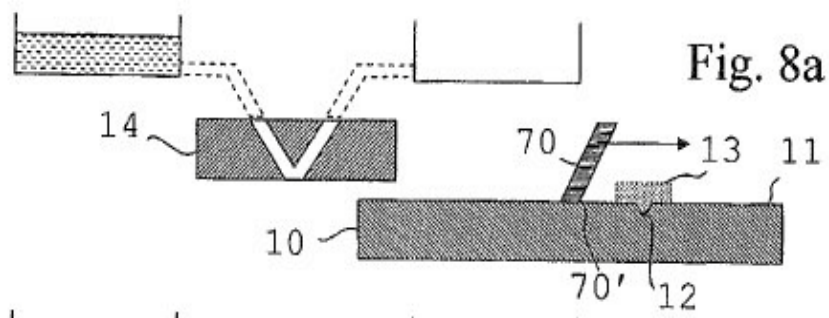
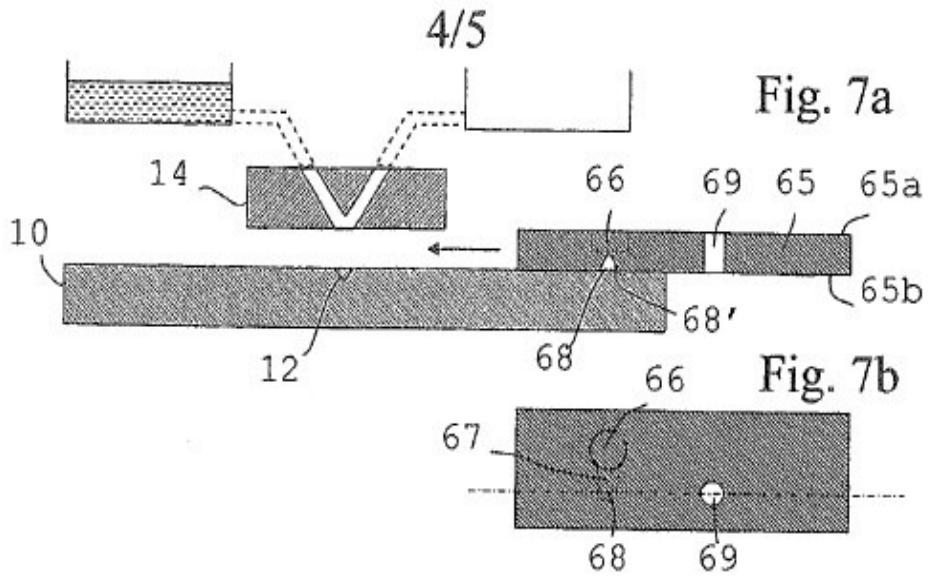
Fig. 1b



2/5







5/5



Fig. 9a



Fig. 9b



Fig. 9c



Fig. 9d



Fig. 9e