

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 372 475**

51 Int. Cl.:  
**G01N 27/72** (2006.01)  
**G01N 33/483** (2006.01)  
**G01N 15/06** (2006.01)  
**G01R 33/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **00991513 .3**  
96 Fecha de presentación: **29.11.2000**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1240509**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.09.2002**

54 Título: **PROCEDIMIENTO Y APARATO PARA LA REALIZACIÓN DE MEDICIONES DE ACUMULACIONES DE PARTÍCULAS MAGNÉTICAS.**

30 Prioridad:  
**30.11.1999 US 451660**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**20.01.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**20.01.2012**

73 Titular/es:  
**QUANTUM DESIGN, INC.**  
**11578 SORRENTO VALLEY ROAD, SUITE 30**  
**SAN DIEGO, CA 92121, US**

72 Inventor/es:  
**SIMMONDS, Michael, Bancroft;**  
**JENSEN, Kurt, Gordon;**  
**DIEDERICHS, Jost, Herman y**  
**BLACK, Randall, Christopher**

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

**ES 2 372 475 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 y aparato para la realización de mediciones de acumulaciones de partículas magnéticas

5 Antecedentes de la invenciónCampo de la invención

10 Esta invención se refiere, de manera general a la detección de la presencia de partículas magnéticas y, más particularmente, a la medición cuantitativa de acumulaciones de dichas partículas por medio de excitación magnética de corriente alterna (CA) y detección inductiva de la amplitud de las oscilaciones resultantes de los momentos magnéticos de las partículas a la frecuencia de excitación.

15 Explicación de la técnica anterior

Se ha prestado mucha atención a las técnicas para determinar la presencia y posteriormente el nivel de concentración de partículas diminutas en una mezcla más grande o solución en la que se encuentran las partículas. Es deseable, en ciertas circunstancias, medir concentraciones muy bajas de ciertos compuestos orgánicos. En medicina, por ejemplo, es muy útil determinar la concentración de un determinado tipo de molécula, usualmente en solución, que existe de manera natural en fluidos fisiológicos (por ejemplo, sangre u orina) o que ha sido introducida en el sistema vivo (por ejemplo, drogas o contaminantes).

25 Un enfoque general utilizado para detectar la presencia de un compuesto particular de interés, al que se hará referencia como analito, es el inmunoensayo, en el que la detección de una especie molecular determinada, a la que se hace referencia, en general, como ligando, se consigue mediante la utilización de una segunda especie molecular, frecuentemente llamada el anti-ligando o receptor, que se une específicamente al primer compuesto de interés. La presencia del ligando de interés es detectada midiendo o deduciendo, de manera directa o indirecta, la extensión de la unión del ligando al anti-ligando.

30 Una explicación de diferentes métodos de detección y medición aparece en la patente USA N° 4.537.861 (Elings y otros). Dicha patente da a conocer varias formas de conseguir inmunoensayos homogéneos en una solución de una reacción de unión entre un ligando y un anti-ligando, que son típicamente un antígeno y un anticuerpo. Elings da a conocer la creación de un modelo espacial formado por un conjunto espacial de regiones separadas de material anti-ligando y material ligando dispersadas para interactuar con el conjunto espacial de regiones separadas de material anti-ligando para producir una reacción de unión entre el ligando y el anti-ligando en los modelos espaciales y con los complejos unidos etiquetados con una característica física determinada. Después de que los complejos unidos etiquetados han sido acumulados en los modelos espaciales, el equipo es escaneado para proporcionar el inmunoensayo deseado. El escáner puede estar basado en fluorescencia, densidad óptica, dispersión de luz, color, y reflectancia, entre otros.

40 Los complejos unidos etiquetados son acumulados sobre segmentos superficiales especialmente separados de acuerdo con Elings o dentro de un conducto ópticamente transparente o contenedor aplicando campos magnéticos localizados en la solución, en la que los complejos unidos incorporan partículas portadoras magnéticas. Las partículas magnéticas tienen dimensiones comprendidas de 0,01 a 50 micrones. Una vez que los complejos unidos son acumulados magnéticamente dentro de la solución, se utilizan las técnicas de escaneado anteriormente descritas.

50 Partículas magnéticas preparadas a partir de magnetita y un material de matriz inerte se han utilizado desde hace mucho tiempo en el campo de la bioquímica. Están comprendidas en dimensiones desde unos pocos nanómetros hasta algunas micras de diámetro, y pueden contener de 15% a 100% de magnetita. Se describen frecuentemente como partículas super-paramagnéticas, o en un rango de dimensiones mayores, como gránulos ("beads"). La metodología habitual consiste en recubrir la superficie de las partículas con un material biológicamente activo que provoca su fuerte unión con objetos microscópicos específicos o partículas de interés (por ejemplo, proteínas, virus, células, fragmentos de ADN). Las partículas pasan a ser entonces "asas" ("handles") mediante las cuales los objetos pueden ser desplazados o inmovilizados utilizando un gradiente magnético, facilitado habitualmente por un imán permanente potente. Por lo tanto, la patente de Elings es un ejemplo de etiquetado utilizando partículas magnéticas. Dispositivos especialmente contruidos que utilizan imanes de tierras raras y piezas polares de hierro, se encuentran comercialmente disponibles para este objetivo.

60 Si bien, estas partículas magnéticas se han utilizado solamente en la práctica para desplazar o inmovilizar los objetos unidos, se ha realizado un cierto trabajo experimental en la utilización de las partículas como etiquetas para detectar la presencia del objeto unido. El etiquetado se realiza habitualmente mediante moléculas radioactivas, fluorescentes, o fosforescentes que son unidas a los objetos de interés. Una etiqueta magnética, si es deseable en cantidades suficientemente pequeñas, sería muy atractiva porque las otras técnicas de etiquetado tienen varios inconvenientes importantes. Por ejemplo, los métodos radioactivos presentan problemas de salud y de eliminación.

Los métodos son también relativamente lentos. Las técnicas de fluorescencia o fosforescencia están limitadas en su exactitud cuantitativa y rango dinámico porque los fotones emitidos pueden ser absorbidos por otros materiales de la muestra. Ver publicación de patente japonesa 63-90765, publicada el 21 de Abril de 1988 (Fujiwara y otros).

5 Dado que la señal procedente de un volumen muy pequeño de partículas magnéticas es excesivamente pequeña, ha sido habitual que los investigadores hayan intentado construir detectores basados en dispositivos de interferencia cuántica super-conductiva ("SQUID"). Los amplificadores SQUID son bien conocidos por encontrarse entre los detectores más sensibles de campos magnéticos en muchas situaciones. No obstante, existen varias dificultades sustanciales con este sistema. Dado que los bucles de captación del SQUID se deben mantener a temperaturas criogénicas, la muestra debe ser enfriada para obtener un acoplamiento muy próximo a estos bucles. Este procedimiento hace las mediciones inaceptablemente trabajosas. La complejidad general de los SQUID y los componentes criogénicos los hacen, en general, poco apropiados para su utilización en un instrumento de sobremesa de poco precio. Incluso un diseño basado en los llamados superconductores de "Tc alto" no superaría por completo estas objeciones e introduciría diferentes nuevas dificultades. Ver Fujiwara y otros.

15 Se han dado a conocer sistemas más tradicionales para detectar y cuantificar las partículas magnéticas. Éstos han comportado alguna forma de magnetometría de fuerzas en la que la muestra es colocada en un gradiente magnético fuerte, y la fuerza resultante sobre la muestra es medida, típicamente, controlando el cambio aparente de peso de la muestra al cambiar el gradiente. Un ejemplo de esta técnica es la que se muestra en las patentes USA N°s 20 5.445.970 y 5.445.971 de Rohr. Una técnica más sofisticada mide el efecto de la partícula en la desviación de vibración de un voladizo micro-mecanizado. Ver Baselt y otros, biosensor basado en tecnología de microscopio de fuerza, Naval Research Lab., J Vac Science TYec. B., Vol 14, No. 2 (pg 5) (Abr. 1996). Estos sistemas son, todos ellos, limitados si se basan en convertir un efecto intrínsecamente magnético en una respuesta mecánica. Esta respuesta se debe distinguir de una gran variedad de otros efectos mecánicos, tales como vibración, viscosidad, y flotación.

Se encontrarán importantes aplicaciones para un instrumento económico, funcionando a temperatura ambiente, en versión de sobremesa, que podrán detectar directamente y cuantificar cantidades muy pequeñas de partículas magnéticas.

30 Resumen de la invención

De acuerdo con la presente invención, se da a conocer un aparato para la medición cuantitativa de partículas de analito, según la reivindicación 1. Las reivindicaciones dependientes muestran ejemplos de dicho aparato.

35 De forma general, la presente invención da a conocer un procedimiento y aparato para la detección directa y medición de muy pequeñas acumulaciones de partículas magnéticamente susceptibles, por ejemplo, magnetita, y, como consecuencia, sus sustancias de interés acopladas.

40 Las partículas o gránulos magnéticos son acoplados por métodos conocidos a partículas de analito, proporcionando de esta manera elementos de muestra magnéticos o complejos magnéticos de unión. Un modelo bien definido de los elementos de muestra magnéticos es depositado sobre la superficie de un soporte. La superficie puede ser plana. A continuación, se aplica un campo magnético de alta frecuencia y elevada amplitud para excitar las partículas de la muestra. Este campo provoca que las partículas se comporten como dipolos localizados que oscilan a la frecuencia de excitación. Los campos de la muestra se acoplan íntimamente a un sensor, tal como un conjunto de bobinas de detección inductiva que se pueden fabricar en configuración de gradiómetro. Esta configuración hace que las bobinas detectoras sean principalmente insensibles a grandes campos uniformes que se utilizan para excitar la muestra. Además, la geometría de las bobinas es diseñada para acoplarse al modelo espacial de la muestra para proporcionar una amplia respuesta que varía de manera distinta con las posiciones relativas de la muestra y las bobinas.

50 El voltaje inducido a través del detector, es amplificado cuidadosamente y procesado por detección sensible de fase. Un captador inductivo del propio campo de activación puede servir como señal de referencia al circuito detector de fase. La salida del detector de fase es filtrada y digitalizada.

55 La amplitud de señales es modulada desplazando la muestra con respecto al sensor. Esto permite el rechazo de señales debidas únicamente al desequilibrio del sensor, faltas de uniformidad del campo de activación, cruzamientos en los circuitos, o cualquier otra fuente de señales aparentes que no son debidas a la propia muestra. La forma digitalizada de la amplitud de señal con respecto a la posición de la muestra es comparada con la forma de respuesta teórica utilizando técnicas de adaptación de curvas apropiadas, proporcionando una estimación muy exacta del contenido magnético de la muestra teniendo en cuenta los ruidos y desplazamientos intrínsecos del instrumento.

60

Breve descripción de los dibujos

El objetivo, ventajas y características de la presente invención se apreciarán más claramente a partir de la siguiente descripción detallada en relación con los dibujos adjuntos, en los que:

5 La figura 1 es una vista en perspectiva de una versión de sobremesa de un diseño, que no muestra la totalidad de características de la presente invención y que no corresponde a la invención;

10 La figura 2 es una vista en planta a mayor escala de un diseño del sensor, mostrando las bobinas detectoras del diseño de la figura 1;

La figura 3 es una perspectiva esquemática de un mecanismo del diseño de la figura 1;

15 La figura 4 es un diagrama eléctrico esquemático del diseño de la figura 1;

La figura 4A es una vista en planta, a mayor escala, del sustrato que soporta las bobinas detectoras de la figura 1;

20 La figura 4B es una vista en perspectiva de una pantalla metálica para el extremo de conexión del sustrato;

La figura 5 es una vista en planta, a mayor escala, de un diseño alternativo de las bobinas detectoras del diseño de la figura 1;

25 La figura 6 es una forma de onda de la señal de salida de las bobinas de detección en comparación con la posición del material magnético;

La figura 7 es una realización de un soporte de muestra de membrana de flujo lateral que se puede realizar una realización de la presente invención;

30 La figura 8 es un sistema de imán de núcleo E que puede ser utilizando en la fuente de campo magnético, según una realización de la invención (observar que no se han representado bobinas magnéticas para mayor claridad);

35 La figura 9 es una realización de un soporte de muestra microfluídico que puede ser utilizado en una realización de la presente invención y;

La figura 10 es una realización de una pieza polar de imán único con sensor acoplado que puede ser utilizada en una realización de la presente invención.

40 Descripción detallada

Haciendo referencia a continuación a los dibujos y, más particularmente, a las figuras 1 y 3 de los mismos, se muestra una realización preferente de la invención.

45 I. Módulo Lector

El módulo lector comprende varios subsistemas distintos. Estos incluyen: un soporte de muestras con control de movimiento. Las muestras del complejo unido magnético para medición se encuentra en el soporte, y él mismo proporciona el movimiento relativo necesario dentro del sistema. Un magnetizador o fuente de campo magnético aplica las señales de excitación a las muestras. Los detectores, tales como bobinas detectoras, actúan como captador de señal para las señales generadas en las muestras. Un circuito de activación suministra la corriente de activación a las bobina del campo magnético. Un amplificador/detector de fase/digitalizador está acoplado al sensor para recibir y procesar las señales de salida procedentes del mismo. Un chip microordenador proporciona comunicación de dos vías entre el ordenador personal externo (PC) y el módulo lector.

55 A. Control de movimiento de la muestra

Se acoplan partículas magnéticas al analito o partículas objetivo por métodos convencionales para crear muestras complejas con portador magnético unido. Las partículas de analito pueden incluir átomos, moléculas individuales y células biológicas, entre otros. Se observará que los términos "partícula objetivo" y "partícula analito" se utilizan sustancialmente de forma intercambiable. Se hace observar además que el término "objetivo" no está destinado a quedar limitado a la definición de este término, tal como se utiliza en la campo de la tecnología recombinante de ADN.

Las muestras complejas con portador magnético unido son depositadas en acumulaciones de varias partículas hasta varios centenares de partículas en una serie de posiciones predeterminadas 11, cerca del perímetro de un soporte de la muestra, tal como un disco 12 no cubierto por la invención, tal como ésta se reivindica (figura 3). Otro soporte de muestras que puede ser sustituido es de flujo lateral pero sin membrana. Una realización que utiliza membranas de flujo lateral se describe a continuación de manera más detallada.

Otro tipo de soporte de muestras no cubierto por la invención, tal como se reivindica, puede utilizar técnica microfluídica. Un sistema microfluídico puede tener una cámara de detección de muestras y canalizaciones apropiadas para desplazar una muestra hacia dentro o hacia fuera de la cámara detectora, utilizando variaciones de presión. Por ejemplo, haciendo referencia la figura 9, se ha mostrado un sistema microfluídico 151 que tiene un canal de entrada 152. El canal de entrada 152 está conectado a una cámara de mezcla 164. Se puede suponer una serie de cámaras de reactivo 154, 156, y 158 para contener diferentes agentes químicos o reactivos. Tal como se describe más adelante, pueden contener también, en caso deseado partículas magnéticamente susceptibles. Cerca de la periferia, o en otro lugar, se puede situar una cámara 166 de análisis de las muestras. La localización de esta cámara es una localización predefinida y es el lugar en el que tendría lugar la medición de la muestra magnética. De acuerdo con ello, el soporte de la muestra debe ser configurado para permitir que esta cámara sea accesible al sensor y a la fuente de campo magnético. De otro modo, la medición magnética puede tener lugar, tal como se ha indicado en otros lugares de esta descripción. Puede tener lugar un proceso adicional después de la medición magnética. Por esta razón, una cámara de medición 168 está prevista que puede tener también su cámara de reactivo propia 160. Se pueden disponer más cámaras de reactivo en caso deseado. Se puede disponer una salida opcional o canal de salida 162. Estos canales pueden no ser necesarios si el dispositivo es solamente un dispositivo de un solo uso. No se ha mostrado en esta figura a efectos de mayor comodidad, pero también se pueden disponer varias entradas de presión y válvulas que permiten que las partículas de analito, las partículas magnéticamente susceptibles, y reactivos, sean trasladados de una cámara a otra.

Las partículas de analito pueden ser medidas cuantitativamente mediante la medición de las partículas magnéticamente susceptibles unidas a las mismas. En el sistema microfluídico, no cubierto por la invención que se reivindica, las muestras pueden ser introducidas con intermedio del canal de entrada como combinaciones de analito y partículas magnéticamente susceptibles. De manera alternativa, las partículas de analito pueden ser introducidas con intermedio del canal de entrada, y las dos se pueden combinar y mezclar en la cámara de mezcla 164.

Las variaciones de este sistema, no cubiertas por la invención, pueden ser múltiples. Por ejemplo, el sensor puede estar situado directamente sobre el chip microfluídico para adaptarse de manera especialmente satisfactoria a la región de análisis. En otra variante, no cubierta por la invención, se puede variar un parámetro distinto en el chip al mismo tiempo o en un tiempo distinto, tal como la temperatura. Se pueden situar medios de control de temperatura en el chip o fuera del chip. Tal como en el caso de calentamiento por láser dentro de la cámara de mezcla. Este sistema requiere una ventana óptica, tal como se comprenderá. Otros parámetros que se pueden variar pueden ser cualesquiera que afecten a la presencia o propiedades de la etiqueta magnética, es decir, la partícula magnéticamente susceptible o su unión a la partícula del analito.

Las formas en las que los complejos con portador unido se pueden adherir a los puntos predeterminados del disco son conocidas y pueden usar tecnología estándar. El disco está montado sobre un eje axial 13 que se prolonga hacia abajo, hasta una rueda dentada 14. Un dispositivo de rotación apropiado, tal como un motor paso a paso 16 tiene un eje 17 que se prolonga desde el mismo con un elemento de husillo helicoidal 15 en el extremo alejado. El motor proporciona un movimiento rotativo controlado del disco 12, de acuerdo con las señales aplicadas desde un PC 66 a través de una serie de cables 18. Desde luego, se podría utilizar en caso deseado acoplamiento inalámbrico entre el PC y el sistema de la invención.

En una realización no cubierta por la invención, tal como se prevé actualmente, el disco 12 tiene aproximadamente 47mm de diámetro y 0,25mm de grosor. Puede estar realizado en vidrio, plástico, o silicio, por ejemplo. Su rango de espesor para objetivos funcionales prácticos sería de 0,1 mm a 1,0mm aproximadamente.

En el caso en el que el soporte de la muestra es una membrana de flujo lateral, el soporte de la muestra se puede hacer parcialmente poroso, de manera que el paso de las partículas de analito a través de la parte porosa de un soporte puede ser otro parámetro a variar. En este caso, las partículas magnéticamente susceptibles están unidas al soporte poroso de la muestra. Por ejemplo, el paso de las partículas de analito a través de una parte porosa del soporte, puede depender probablemente de la masa o dimensiones de las partículas. De este modo, la localización de las partículas dentro de la parte porosa puede ser dependiente de la masa o dependiente del tamaño. Dado que las partículas de analito atraviesan el soporte de muestra poroso, se puede unir preferentemente, y de manera predeterminada a las partículas magnéticamente susceptibles. Las muestras con portador unido que contienen partículas de analito combinadas con partículas magnéticamente susceptibles, pueden ser medidas magnéticamente utilizando el dispositivo de la invención. La parte porosa del soporte se puede sustituir, por ejemplo, con un filtro, tal como es conocido en esta técnica. Estos filtros se pueden escoger para conseguir una dependencia adecuada de la masa o de las dimensiones de acuerdo con las exigencias del proceso.

Por ejemplo, haciendo referencia a la figura 7, se ha mostrado una membrana de flujo lateral 101. Se pueden verter partículas de analito en una esterilla intermedia 102, de la que son liberadas hacia dentro de la membrana de flujo 103. Las partículas pueden pasar a continuación por acción capilar hacia la membrana y más allá de la línea de prueba 106 sobre la que están situadas las partículas magnéticamente unidas. Se puede disponer también una línea de control 108. Finalmente, una esterilla absorbente 104 puede estar situada más abajo, en caso deseado, para recoger las partículas de analito no unidas.

En su funcionamiento, la línea de prueba puede incluir partículas de hierro coloidal recubiertas de un material que se une específicamente con un material del analito de interés. De esta manera, la línea de prueba recoge partículas de analito de forma preferente. La línea de control 108 puede tener una cantidad conocida de hierro coloidal para calibración u otros objetivos.

El soporte de la muestra puede utilizar también un dispositivo de referencia, tal como un código de barras, para proporcionar una etiqueta exclusiva legible a una máquina para identificar o localizar la región o regiones individuales y el ensayo o ensayos asociados a las mismas. El dispositivo de referencia puede indexar, especialmente, la localización de una región o regiones individuales de análisis. El dispositivo de referencia proporciona una forma conveniente para identificar una muestra de material magnético complejo. Además de códigos de barras, el dispositivo de referencia puede utilizar de manera alternativa una banda magnética, un microchip, una referencia óptica, y otros. El dispositivo de referencia puede estar alineado ópticamente con la muestra correspondiente para la facilidad de referencia.

El ordenador/CPU puede leer la información de referencia a lo largo de la señal magnética (ensayo) y, a continuación, visualizar y almacenar los resultados del ensayo en el contexto apropiado. Por ejemplo, un ensayo para medir la presencia de e.coli tendría probablemente unos resultados visualizados en una forma distinta que un ensayo de pruebas para la presencia de unión de oligonucleótidos. Dado que el sustrato puede ser preparado específicamente para cada tipo de ensayo, esta información puede ser codificada en el sustrato como código de barras o utilizando una de las técnicas anteriormente descritas.

En este diseño específico (figura 3), el motor 16 gira la rueda 14 que está conectada al disco 12 (no cubierto por la invención) por el eje 13, a través de una reducción por husillo helicoidal de 120 dientes. Desde luego, se podrían utilizar también dispositivos de rotación con diferentes características.

Una fuente de campo magnético 21 puede ser desplazada de manera lineal con respecto al disco 12 (no cubierto por la invención) por un dispositivo de rotación, tal como un motor paso a paso 22, que tiene un husillo 23 de 40 vueltas por círculo en un eje motor 24. Un saliente 25 queda configurado con un orificio que tiene roscado interno, en el que están acoplados los filetes de rosca del husillo helicoidal. Las señales de control son aplicadas desde el microordenador 65 al motor 22 con intermedio de los cables 26. También, en este caso, las características específicas del dispositivo de rotación se han explicado solamente como ejemplo. También se podrían utilizar otros elementos apropiados con diferentes características.

Por ejemplo, si bien el sistema anterior describe una situación en la que la fuente de campo magnético es desplazada linealmente con respecto al soporte de la muestra, se pueden utilizar otros diseños en los que el soporte de la muestra es desplazado con respecto a la fuente de campo magnético. En este último diseño, el soporte de la muestra puede ser montado en un eje y sistema de impulsión mecánica similar al sistema de impulsión mostrado en la figura 3. El sistema de impulsión puede desplazar el soporte de la muestra hacia dentro del intersticio de la fuente de campo magnético de manera controlada.

Se pueden utilizar numerosos tipos de sistemas de impulsión. Estos incluyen motores paso a paso, disposiciones de husillo y motor, dispositivos hidráulicos, accionamientos magnéticos, configuraciones en las que un operador humano desplaza físicamente el soporte de la muestra con respecto a la fuente de campo magnético y con respecto al sensor, dispositivos de depresión, rodillos de pinzado, sistemas transportadores etc.

En lo anterior, se ha descrito el movimiento del soporte de la muestra desde un lugar en el que pueden ser dispuestas las muestras hasta un lugar cerca del campo magnético provocado por la fuente de campo magnético. Otro movimiento que tiene lugar en el sistema es el movimiento del soporte de las muestras más allá del sensor. Se pueden llevar a cabo varios movimientos para adaptarse a ello. Por ejemplo, se puede adaptar un movimiento bidimensional entre el sensor y el soporte de la muestra. En el diseño de la figura 3 (no cubierto por la invención), se ha mostrado, utilizando el motor 16, un movimiento con un grado de libertad (por ejemplo, a lo largo de un arco de círculo). El sistema de impulsión del motor 22 puede ser utilizando también para trasladar el sensor a lo largo de otro grado de libertad. De manera alternativa, otro motor puede ser utilizado para desplazar el soporte de la muestra a lo largo de un grado de libertad similar. Finalmente, se debe observar que al utilizar engranajes apropiados, el mismo motor puede ser utilizado para proporcionar cualquier combinación de los movimientos anteriormente indicados, u otros.

En otros diseños (no cubiertos por la invención), el sistema de impulsión puede incluir un rodillo de pinzado que sujeta una banda de plástico sobre la que está dispuesta una muestra, desplazando la misma más allá del sensor de manera controlada. Dicho diseño puede ser particularmente útil en el caso de que la muestra sea colocada sobre una banda en una tarjeta de plástico similar a una tarjeta de crédito, que a continuación, es "sujeta" por un dispositivo similar al utilizado en máquinas ATM. Desde luego, el sistema de impulsión puede ser cualquiera de los sistemas descritos en lo anterior, así como otros sistemas alternativos.

#### B. Fuente de campo magnético

Haciendo referencia a la figura 4, un núcleo toroide de ferrita 31, que tiene unos 30 mm de diámetro en la realización específica que se describe, está dotado de un intersticio 32 que tienen aproximadamente una anchura de 1,5 mm. Una bobina de activación 33 está arrollada formando una capa única sobre 270° del toroide 31, simétrica con respecto al intersticio. Un bucle de realimentación 34 rodea el cuerpo toroidal en una localización aproximadamente de 180° con respecto al intersticio (opuesto). El bucle 24 puede encontrarse fuera de la bobina 33 o entre la bobina 33 y el núcleo toroidal. Puede incluir algunas espiras o muchas espiras, según sea necesario y apropiado para la función de realimentación. El objetivo del bucle de realimentación es el de detectar o representar el campo en el intersticio 32 y posibilitar el proceso de la señal o circuito de salida para la autocorrección de variaciones, tales como la desviación de temperatura. Este bucle es utilizado para aumentar la precisión y no es esencial para el funcionamiento adecuado del sistema.

También, se pueden utilizar otras varias fuentes de campo magnético. Por ejemplo, si bien la mayoría utilizan electroimanes, los electroimanes pueden adoptar la forma, por ejemplo, de toroides o los llamados "núcleo E" que son imanes que utilizan la forma de una "E" (ver figura 8). En los núcleos "E", el segmento intermedio de la "E" se hace algo más corto que los segmentos externos. Haciendo referencia a la figura 8, dos núcleos "E" 112 y 112' están colocados con sus lados abiertos dirigidos uno hacia el otro. Los segmentos medios más cortos definen un pequeño intersticio intermedio 114. A continuación, se puede colar una muestra, por ejemplo, sobre una banda de material plástico 116 (no cubierto por la invención) en este pequeño intersticio. El sensor utilizado para medir la oscilación de las magnetizaciones puede encontrarse en un sustrato separado 118, situado también en el pequeño intersticio o alternativamente, puede estar dispuesto al final de uno o ambos segmentos intermedios más cortos, en cualquiera de las realizaciones, en realidad, el sensor puede estar dispuesto sobre una pieza polar magnética u otro elemento similar que forma el perímetro del intersticio. De esta manera, la unidad se puede hacer más modular, y la colocación de la bobina más uniforme y consistente.

En otras realizaciones, no se requiere intersticio en absoluto. Haciendo referencia a la figura 10, una única pieza polar magnética 201 puede estar situada con un sensor dispuesto en la misma o dispuesto en una banda separada. En la figura 10, el sensor se ha mostrado en forma de dos bobinas detectoras 202 y 204. La pieza polar puede alternar el campo magnético, y el sensor puede medir las magnetizaciones oscilantes, tal como se ha indicado anteriormente.

Haciendo referencia nuevamente a la figura 3, el conjunto de la fuente de campo magnético está montado en un cuerpo aislante 35, que puede estar constituido en fibra de vidrio. El cuerpo 35 tiene una ranura 36 que corresponde a la posición del intersticio 32. Esta ranura/intersticio está conformada y configurada para recibir de manera selectiva el borde de un disco rotativo 12, y proporciona espacio para el sustrato de la bobina detectora, que se describirá a continuación de manera detallada.

#### C. Sensores

Se utiliza un sensor para medir la intensidad del campo magnético de las muestras. En esta realización, el método utilizado es la susceptibilidad a CA. Se puede utilizar una serie de tipos de sensores. En las realizaciones indicadas a continuación, se describen bobinas detectoras conectadas con una configuración de gradiómetro. Se debe observar que la configuración de gradiómetro no se requiere de manera necesaria; además, se pueden utilizar otros tipos de sensores. Estos sensores pueden incluir sensores Hall, sensores GMR, u otros tipos de sensores capaces de medir la intensidad del campo magnético o del flujo magnético.

Haciendo referencia particularmente a las figuras 2-4 y 4A, un sustrato aislante 41 queda dispuesto en la ranura 36 en el cuerpo envolvente 35 y se prolonga hacia dentro del intersticio 32. Unas patillas de unión 40, 42 están dispuestas en el extremo próximo de un sustrato 41 y un sensor, en particular bobinas sensoras 43, está montado adyacente a un extremo distal del sustrato 41. Preferentemente, el sustrato está realizado a base de zafiro o silicio, y los elementos sensores son bobinas de película de cobre delgada. Las técnicas estándar de fabricación de películas delgadas pueden ser utilizadas para construir un sustrato y bobinas detectoras, de manera que los cables hacia y desde cada bobina se encuentran en capas diferentes separadas. Por ejemplo, se pueden disponer guías entrantes 49 sobre la superficie del sustrato por métodos estándar de proceso fotolítico, a continuación, una capa de cuarzo colocada por bombardeo iónico puede cubrir los cables entrantes, a continuación, las bobinas 43 y los cables de salida 44 son aplicados de manera similar y, a continuación, se puede añadir por encima una capa protectora de cuarzo. Se utilizarían los medios habituales para conexión entre capas.

Las bobinas detectoras, que están conectadas en oposición en serie creando una configuración de gradiómetro, están conectadas a las patillas de unión 40, 42 por guías conductoras 44 y 49, y desde allí al circuito de proceso de la señal mediante pares de cables torsionados 45. La disposición de pares torsionados se utiliza par ayudar a reducir la capacidad de señales dispersas o las interferencias.

En la forma espiral mostrada en la figura 2, las guías de la bobina pueden tener una anchura de unas 5 micras con un paso de unas 10 micras entre las guías espirales. El grosor de las guías de la bobina sensora puede ser aproximadamente de 1 micra. El diámetro de cada bobina terminada es aproximadamente de 0,25 mm.

Al hacer el sustrato 41 relativamente largo y estrecho, las patillas de unión 40, 42 están relativamente alejadas del intersticio del toroide, lo que ayuda a minimizar la captación de señales parásitas o interferencias en las patillas soldadas 45. La pantalla metálica 56 (figura 4B) puede ser utilizada alrededor del área de unión para ayudar adicionalmente a la reducción de señales parásitas o captación de interferencias. La protección o pantalla es básicamente una pieza corta de un cilindro de paredes gruesas, formado típicamente de cobre. La protección proporciona apantallado eléctrico y facilita la manipulación mecánica, pero no es esencial para el funcionamiento de la realización de la invención. El extremo (próximo) de la conexión del sustrato es desplazado por deslizamiento hacia dentro de la ranura 50 después de haber realizado las conexiones de los cables.

Una realización alternativa de las bobinas detectoras, se ha mostrado en la figura 5. La configuración plana de las bobinas 47 es un rectángulo alargado. Las dimensiones de la guía son las mismas que para las bobinas de la figura 2, y la anchura combinada de la bobina es de unos 0,25 mm. La longitud del a bobina de 1-2mm aproximadamente, y las bobinas están conectadas a las patillas de unión 52, 53 por medio de los conductores 48, 51.

En otra realización alternativa, se pueden utilizar dos juegos de bobinas. Un juego de bobinas puede ser utilizado, tal como se ha descrito anteriormente, para medir el momento magnético de la muestra. Otro juego de bobinas puede ser utilizado dentro del mismo sustrato como juego de bobinas de referencia. Este juego de bobinas de referencia puede estar dispuesto, por ejemplo, al lado del sustrato opuesto al del juego de bobinas de la muestra. En cualquier caso, el juego de bobinas de referencia está dispuesto suficientemente lejos de la muestra para que el efecto del momento magnético de la muestra no sea detectado por el juego de bobinas de referencia. El juego de referencias de bobinas es utilizado a continuación para medir la intensidad de la señal desde una región de análisis que contiene una cantidad predeterminada de material magnético o analito de referencia. Por comparación de la reacción al campo magnético por el conjunto de muestras de bobinas con el campo magnético detectado por el juego de bobinas de referencia, se puede realizar una medición más precisa del momento magnético de la muestra. Para conseguir otra referencia, se puede utilizar un estándar magnético como una de las muestras. Cuando dicha muestra estándar es medida, los resultados pueden ser utilizados para calibrar el sistema para mediciones futuras o previas. Esta calibración puede ayudar significativamente a reducir ruidos en el sistema. La auto-calibración puede ser empleada también con este sistema utilizando el diferencial entre señales para llevar la señal a cero.

#### 40 D Circuito de Activación

El circuito de activación magnética mostrado en el lado izquierdo de la figura 4, está constituido alrededor de un par de amplificadores operativos de elevada corriente y alta velocidad 54, 55. Facilitada la potencia por el arrollamiento primario de transformador 56, los amplificadores pueden proporcionar más de un amperio de corriente de activación a la bobina de magnetización o de activación 33, aproximadamente a 200 kHz. Este circuito de activación está altamente equilibrado para minimizar la captación de ruidos en modalidad común en los bucles o bobinas de detección 43, 47.

Un pequeño arrollamiento secundario 57, acoplado al bucle 34, alrededor de la bobina de magnetización, proporciona un voltaje de realimentación a los amplificadores operativos 54 y 55 para mantener las oscilaciones a una amplitud y frecuencias bien reguladas. Este arrollamiento secundario 57 también proporciona una señal de referencia óptima para los circuitos detectores de fase que se describen más adelante.

Esta realización describe un campo alternativo como fuente de activación para el complejo de partículas magnéticas y analito. En una realización separada, la fuente de activación puede ser no senoidal, por ejemplo, puede ser un impulso de campo o una onda cuadrada. Se puede utilizar también una serie de otras formas de onda distinta.

#### E. Amplificador/ Detector de fase/ Digitalizador

Un amplificador de instrumentación integrada con ruidos bajos es la base para estos circuitos, si bien se podría obtener un rendimiento algo mejor en cuanto a los ruidos utilizando componentes separados o discretos. El amplificador 61 está acoplado por transformador a las bobinas sensoras para reducir las señales de ruido en modalidad común y facilitar una forma conveniente, para anular los desequilibrios en la fuente de campo magnético y en el sensor. El acoplamiento de transformador es convencional, está situado en el amplificador 61 y no se ha mostrado específicamente en el dibujo. En una realización alternativa, el amplificador 61 puede ser sustituido por un

pre-amplificador o suplementado por el mismo, dispuesto en el sustrato. En otras palabras, el sustrato 41 puede tener modelado sobre el mismo un amplificador para modificar las señales procedentes del sensor antes de la etapa de detección de fase. El detector 62 con sensibilidad a la fase está también diseñado alrededor de un circuito integrado con finalidad específica. El detector 62 sensible a la fase puede ser un dispositivo de bloqueo de fase o, alternativamente, cualquier otro tipo de dispositivo sensible a la fase. La salida del detector de fase es aplicada a un filtro de paso bajo 63 y es digitalizada en el convertidor A/D 64. El convertidor puede ser un convertidor sigma-delta de 20 bits, de alta resolución, por ejemplo. Este chip convertidor tiene una eliminación adecuada de zumbido tanto a 60 como a 50 Hz, lo que muestra ser muy interesante al hacer máxima la sensibilidad del instrumento. Es un elemento comercial que se puede conseguir de diferentes fabricantes.

#### F. Microordenador

El microordenador 65 comprende un chip microprocesador, tal como el Motorola HC11, y tiene un puerto incorporado que soporta comunicación serie de dos vías al PC 66 al enchufar en el puerto serie del PC. También tiene puertos especializados para la comunicación con el convertidor serie A/D 64 y los motores paso a paso 16 y 22. Una simple instrucción de lenguaje programada directamente en el mismo ordenador 65 permite que el PC envíe instrucciones y reciba respuestas y datos.

El microordenador 65 puede llevar a cabo también muchas de las funciones previamente descritas en lo anterior. Por ejemplo, el microordenador 65 puede estar dotado de un dispositivo propio sensible a la fase, tal como un bloqueo digital. Este microordenador 65 puede captar las señales, datos separados de los ruidos, y visualizar los resultados.

#### G. Interfaz Humano

El PC proporciona la instrucción operativa para el sistema. El PC hace funcionar el sistema a través de un interfaz RS-232, por ejemplo, del microordenador. El PC proporciona una visualización de los resultados de las mediciones. La visualización puede ser, por ejemplo, una pantalla monitor de un ordenador o cualquier otra forma de lectura asistida por ordenador.

#### II. Funcionamiento del Sistema.

En una forma relativamente simple y conocida, una marca o modelo bien definidos de los complejos de partículas magnéticas, comprendiendo las muestras, es depositada sobre el disco 12 (no cubierto por la invención) en uno o más lugares 11 cerca de su periferia. De acuerdo con las señales de control procedentes del PC, el motor paso a paso 22 es activado para provocar el giro del husillo helicoidal 23 para desplazar el conjunto de fuente de campo magnético hacia el disco de muestra 12. Cuando una posición de muestra 11 próxima al borde periférico del disco 12 está alineada con un sensor, tal como las bobinas sensoras 42, 47 en la parte media del intersticio toroidal 32, el motor paso a paso 22 se para y se aplica una señal de elevada amplitud (1 amperio, por ejemplo), elevada frecuencia (200 kHz) a la bobina de activación toroidal 33. También, en este caso, si bien se describen bobinas de detección más adelante, se debe comprender que se podría utilizar una serie de sensores distintos. Una señal procedente del PC 66 activa entonces al motor paso a paso 16 para hacer girar el disco y desplazar, de esta manera, la marca de las muestras más allá de las bobinas sensoras. El campo magnético de alta frecuencia y elevada amplitud del intersticio 32 excita, por lo tanto, las partículas magnéticas de la muestra en el intersticio. La corriente aplicada está destinada a activar el toroide hasta saturación, teniendo como resultado en que el campo del intersticio tiene una magnitud aproximada de 1000 oersted. Las partículas oscilan, a continuación, magnéticamente a la frecuencia de excitación, comportándose como dipolo localizado. Dada la elevada proximidad física de las partículas magnéticas con respecto a las bobinas sensoras, los campos magnéticos de la muestra están íntimamente acoplados a las bobinas detectoras configuradas en forma de gradiómetro. Dada la configuración de las bobinas detectoras en forma de gradiómetro, la salida de las bobinas detectoras, debido al campo de excitación grande y uniforme, es sustancialmente nulo o cero. A efectos de obtener la mayor respuesta posible, la geometría de las bobinas detectoras es configurada para adaptarse al modelo espacial de las muestras. Es decir, las marcas modelo de la muestra no son mayores de, aproximadamente, 0,25 mm. La señal de respuesta varía de forma distinta con la posición relativa de la muestra y de las bobinas.

La señal procedente de las bobinas detectoras en presencia del campo de activación y en ausencia de una muestra, puede servir como señal de referencia a la parte de proceso de señal del sistema. Al desplazarse la muestra más allá de una bobina sensora y, a continuación, la otra, la fase de la señal de salida de la bobina se invierte en 180 grados, tal como se ha mostrado en la figura 6, proporcionando, por lo tanto, una técnica de detección muy potente. Tal como se ha mostrado en la figura 6, la salida se puede mostrar como respuesta de las bobinas sensoras en comparación con la posición de la muestra con respecto a las bobinas sensoras. El voltaje inducido es amplificado por el amplificador 61 y procesado por el detector de fase 62. Dicha señal es filtrada y digitalizada, y pasada al PC a través del microordenador 65 para proporcionar las señales de salida al PC. El indicador 67 puede ser de cualquier tipo de dispositivo utilizable para proporcionar información al operador del sistema. El indicador 67 podría ser un

indicador visual transportando información numéricamente o gráficamente, o puede ser también una serie de sistemas de iluminación, indicadores audibles, o cualquier combinación de éstos, u otros indicadores posibles.

5 La amplitud de la señal de salida es modulada al desplazar la muestra con respecto al conjunto de las bobinas sensoras. Esto permite el retraso de señales debidas solamente al sistema y entradas externas, y no debidas a la propia muestra. La forma digitalizada de la amplitud de señal con respecto a la posición de la muestra se compara con la forma de respuesta teórica almacenada en el PC 66 utilizando técnicas de adaptación de curva apropiadas. Estas técnicas pueden incluir técnicas sensibles a la fase u otras técnicas que proporcionan resultados similares. El resultado de esta operación es una estimación muy precisa del contenido magnético de la muestra con exclusión del ruido y desplazamiento intrínseco del instrumento.

15 Si bien se ha explicado anteriormente una realización preferente de la invención, se deben mencionar algunas alternativas. Se han mostrado dos formas de bobinas sensoras, pero se podrían utilizar muchas otras configuraciones. Además, tal como se ha indicado en lo anterior, se pueden utilizar sensores que están conformados directamente sobre una o varias de las piezas polares de la fuente de campo magnético. Además, otras variedades de sensores podrían ser utilizadas además de los tipos de bobinas que se han dado a conocer. Por ejemplo, se pueden utilizar sensores Hall de equilibrado. En configuraciones apropiadas, estos pueden facilitar una señal independiente de la frecuencia. Otros sensores que pueden ser utilizados ventajosamente, incluyen sensores gigantes de magnetorresistencia (GMR), sensores SQUID, sensores magnetorresistentes, etc.

20 En otras variantes, la fuente de campo magnético se ha mostrado en desplazamiento con respecto al disco de muestra, sin embargo, el disco y el motor paso a paso acoplados podrían estar configurados para desplazarse con respecto al conjunto de activación magnética en caso deseado. El núcleo toroide se ha mostrado con una sección transversal rectangular, pero también son factibles otras formas. En cuanto al número de partículas de muestra en una marca 11 sobre el disco 12, por ejemplo, una marca de 0,25 mm de elementos de muestra podría contener aproximadamente 10 partículas magnéticas con el tamaño de cinco micras, o unas 1200 partículas con el tamaño de una micra.

30 Por lo tanto, teniendo en cuenta la descripción anterior, es posible que puedan aparecer modificaciones y mejoras a los técnicos en el campo técnico de aplicación que se encuentran dentro del espíritu y ámbito de las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Aparato para la medición cuantitativa de partículas de analito utilizando partículas magnéticamente susceptibles, que comprende:

- 5 un soporte de muestras;
- una fuente de campo magnético para aplicar un campo magnético alterno a las muestras en el área predefinida;
- 10 un sensor de campo magnético que tiene conductores de señal de salida para comunicar señales de salida; y un procesador electrónico de señal para convertir las señales de salida del sensor para proporcionar una señal indicativa de la cantidad de las muestras en el área predefinida

15 caracterizado porque el soporte de muestras comprende:

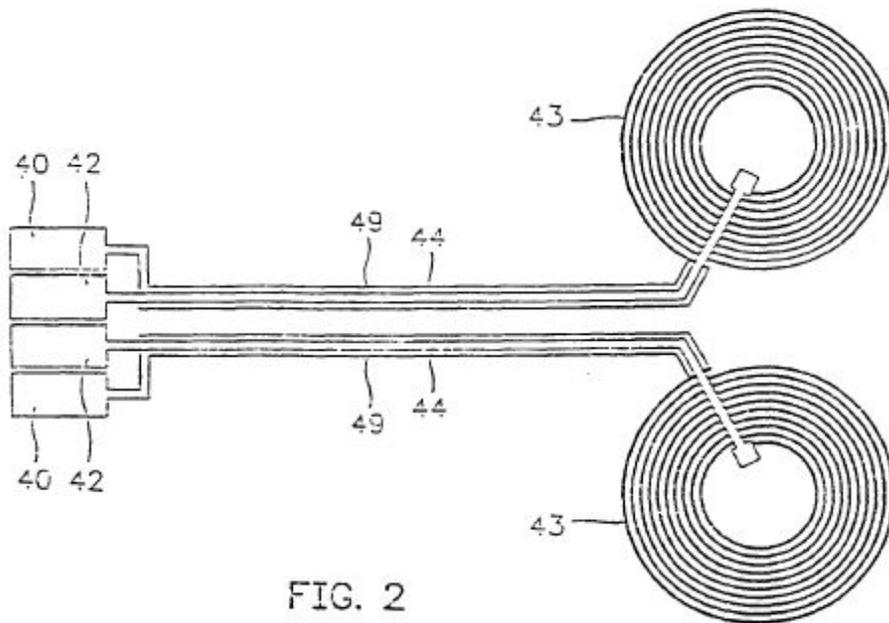
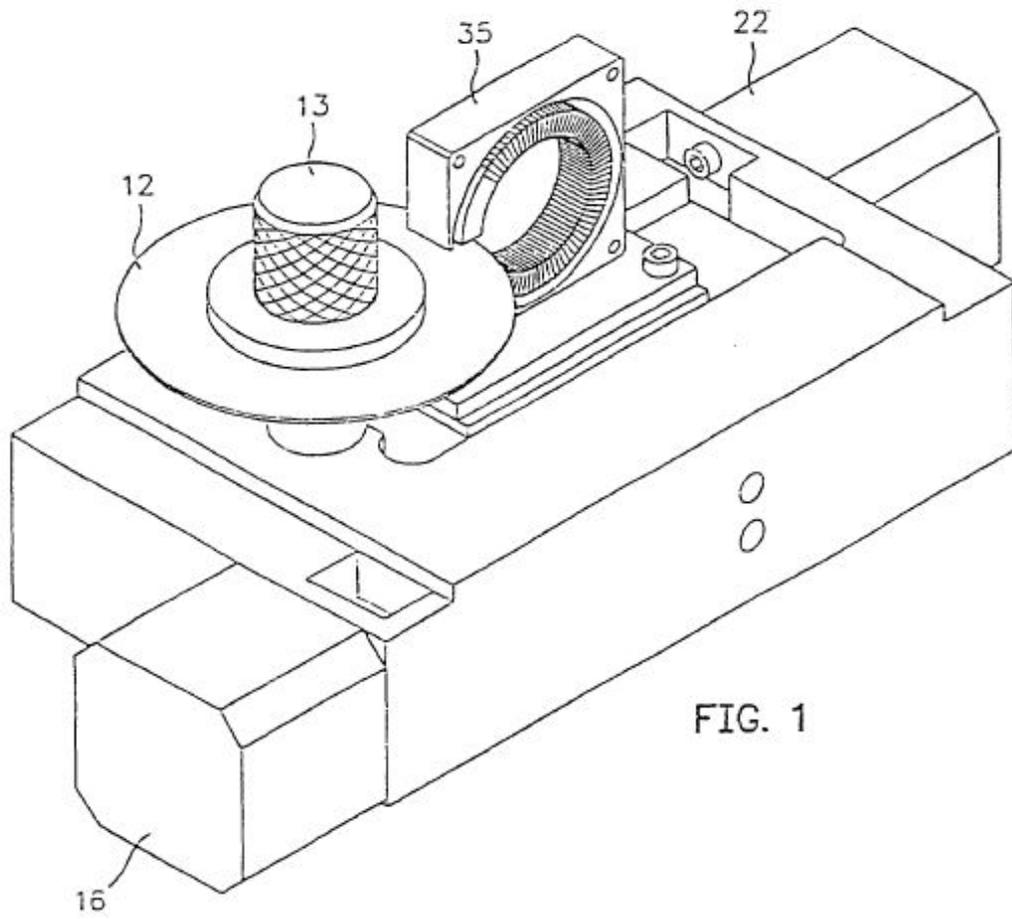
- 20 una entrada para la introducción de partículas de analito; y
- una membrana de flujo lateral (101), a través de la cual pueden pasar las partículas de analito, incluyendo la membrana de flujo lateral (101) un área predeterminada que contiene una serie de partículas magnéticamente susceptibles unidas, de manera que las partículas de analito que circulan pueden quedar unidas a las partículas magnéticamente susceptibles unidas
- 25 de manera que una esterilla de liberación (102), una esterilla absorbente (104), y una línea de prueba (106) sobre la que están situadas dichas partículas susceptibles unidas, se disponen de manera que las partículas de analito pueden ser vertidas en dicha esterilla de liberación (102), de manera que se liberan hacia dentro de dicha membrana de flujo (101) y pueden pasar por acción capilar hacia abajo dentro de dicha membrana (101) y más allá de la línea de pruebas (106), estando situada la esterilla absorbente (104) más abajo de la línea de prueba (106) para recoger partículas de analito no unidas.

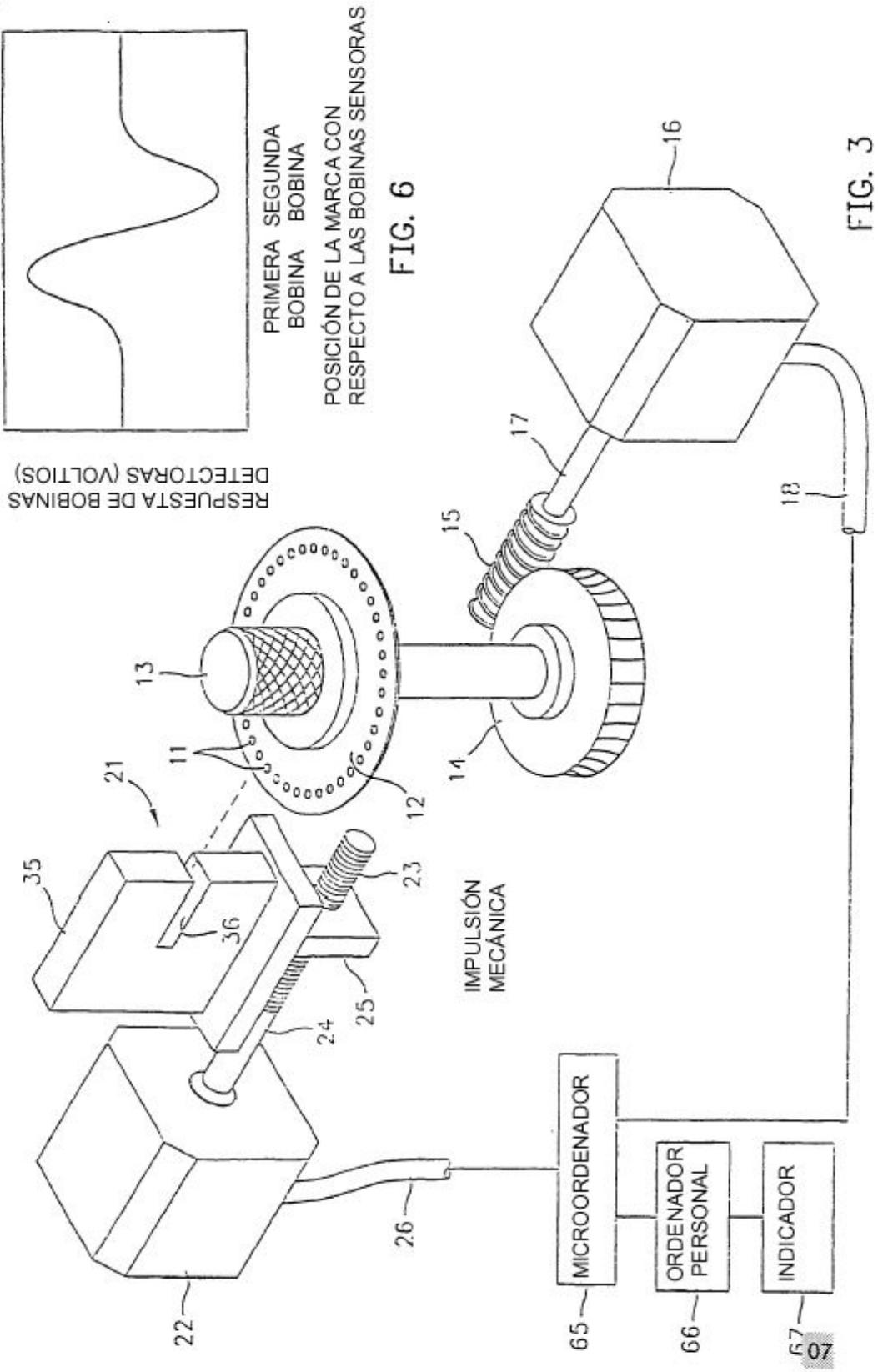
35 2. Aparato, según la reivindicación 1, caracterizado porque el soporte de la muestra es una ventana de flujo lateral (101).

3. Aparato, según la reivindicación 2, caracterizado porque el soporte de muestra es parcialmente poroso.

40 4. Aparato, según cualquiera de las reivindicaciones 2 ó 3, caracterizado porque la membrana de flujo lateral (101) comprende una línea de control (108).

5. Aparato, según la reivindicación 4, caracterizado porque la línea de control (108) tiene una cantidad conocida de hierro coloidal para calibración.





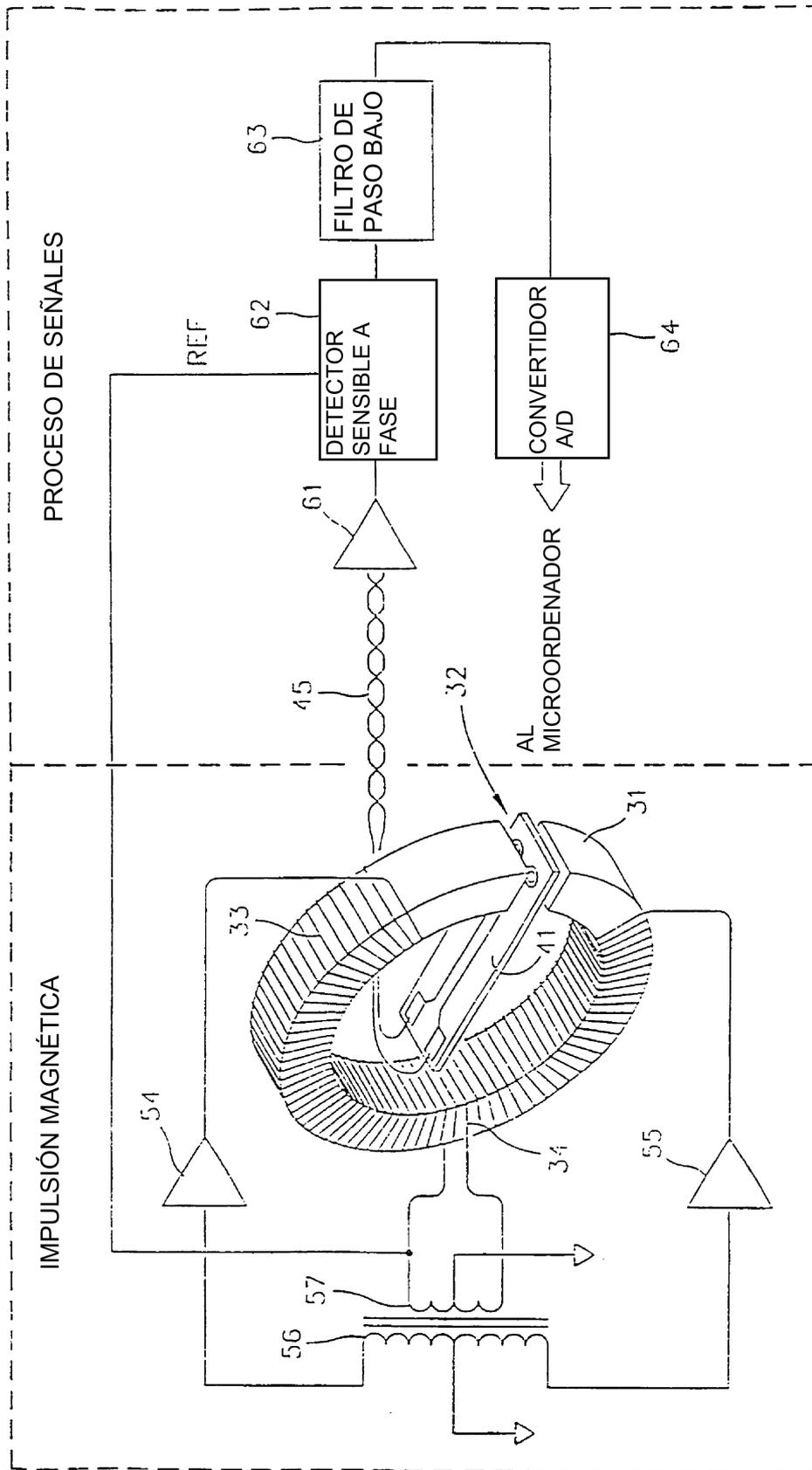


FIG. 4

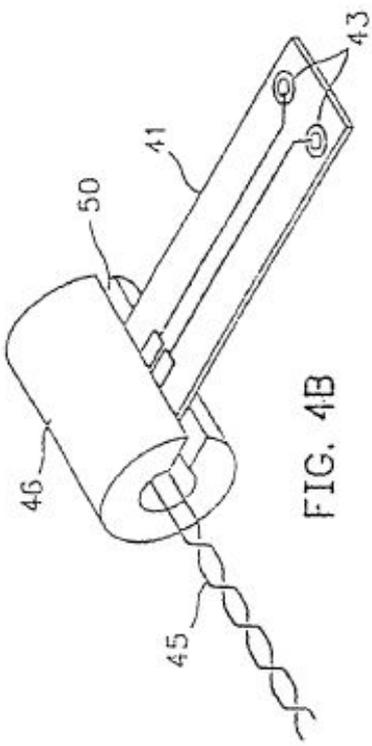


FIG. 4B

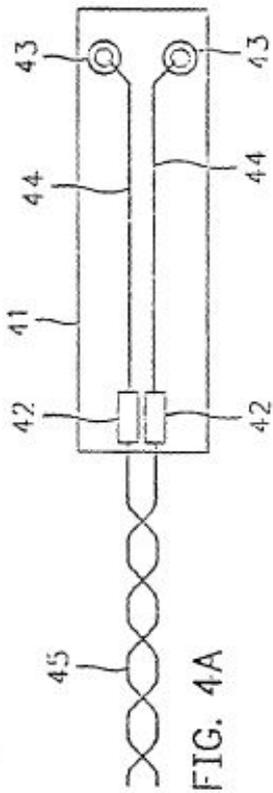


FIG. 4A

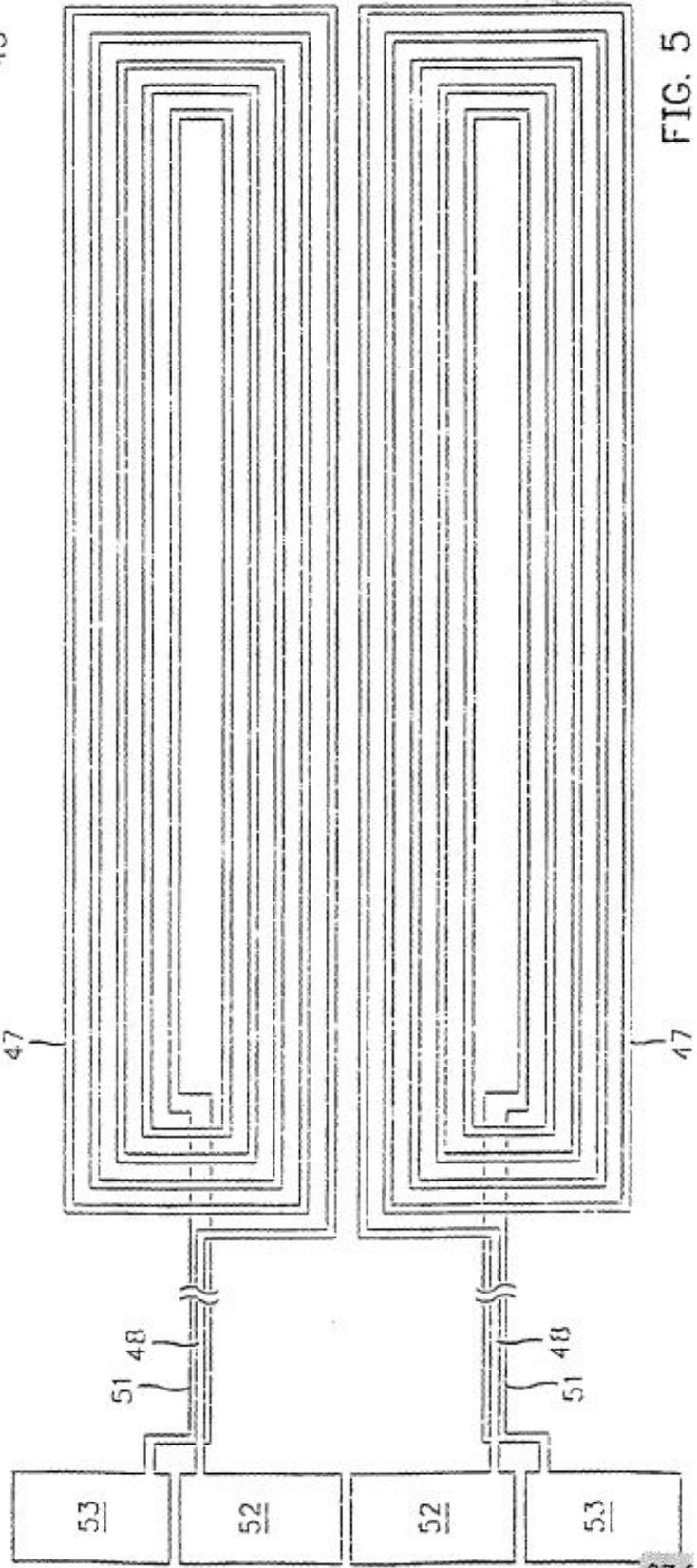
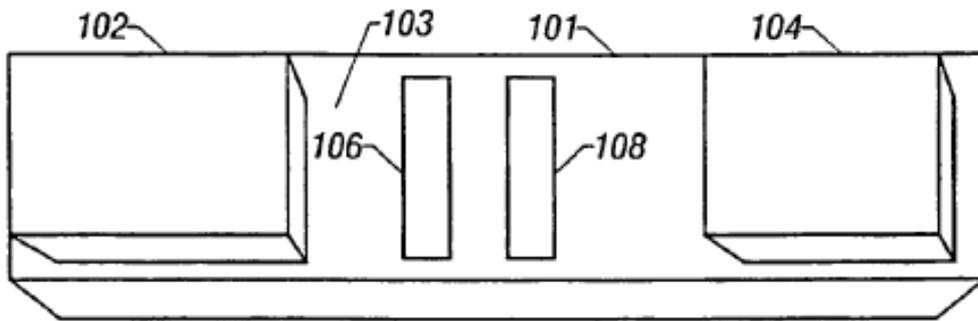
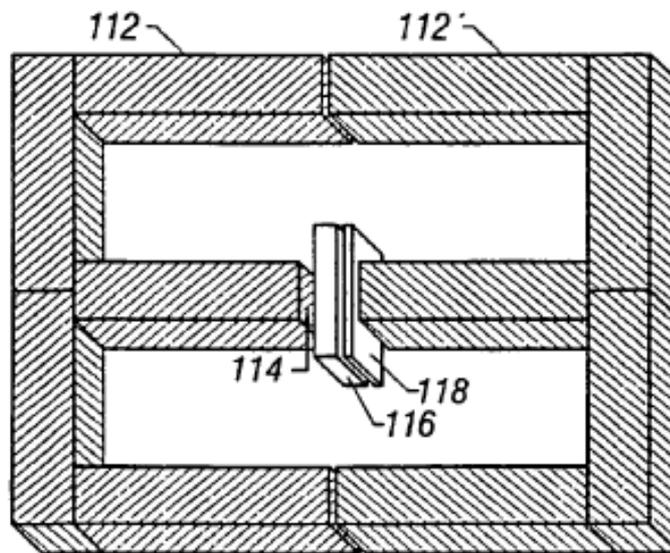


FIG. 5

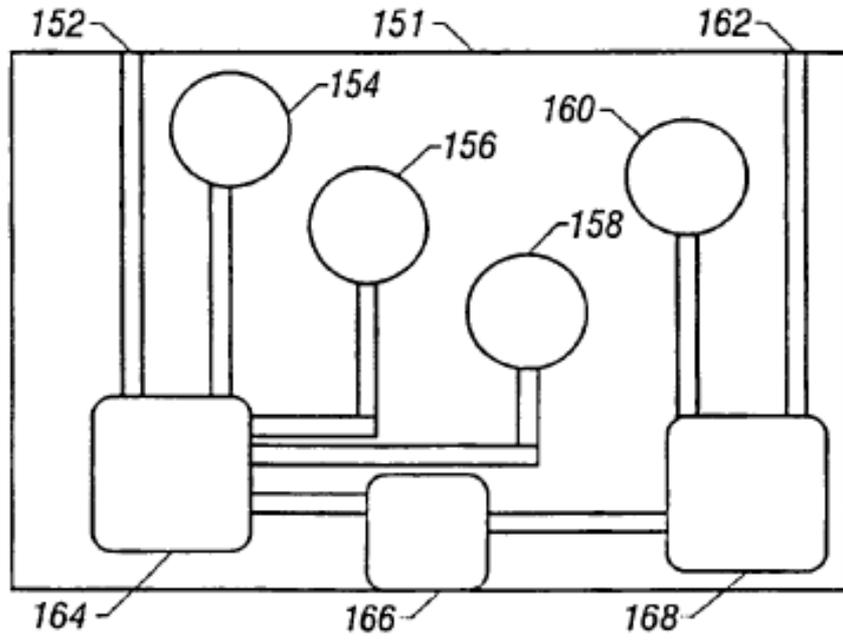
07-C



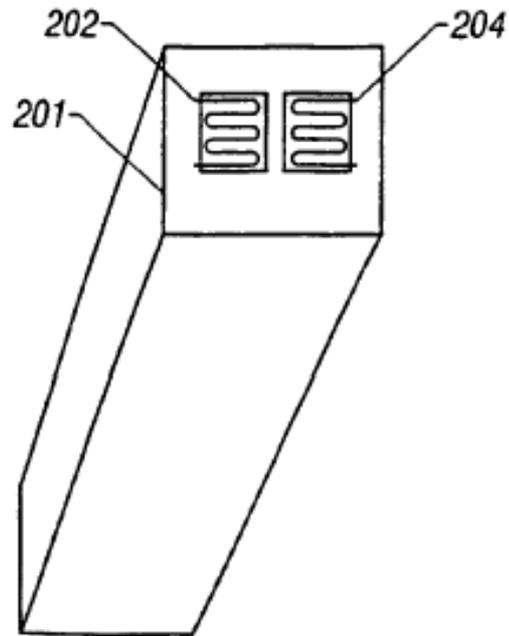
**FIG. 7**



**FIG. 8**



**FIG. 9**



**FIG. 10**