

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 511**

51 Int. Cl.:
G01N 33/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **99909728 .0**
96 Fecha de presentación: **02.03.1999**
97 Número de publicación de la solicitud: **1070251**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.01.2001**

54 Título: **Aparato para analizar muestras de fluidos biológicos sustancialmente no diluidas**

30 Prioridad:
07.03.1998 US 77210 P
23.02.1999 US 255673

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.05.2012

73 Titular/es:
STEPHEN CLARK K 5 F 8 @ K
HIGHROCK
LYME, CT 06371, US;
ROBERT AARON LEVINE y
WARDLAW PARTNERS LP

72 Inventor/es:
K U X U k ž Stephen Clark y
Levine, Robert Aaron

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 380 511 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

Aparato para analizar muestras de fluidos biológicos sustancialmente no diluidas

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

1. Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a un aparato para analizar muestras de fluidos biológicos en general, y a aparatos capaces de realizar análisis en diversas disciplinas, que incluyen hematología, química biológica, inmunoquímica, serología, inmunología y urinalisis en particular.

2. Información de los antecedentes

10 Históricamente, las muestras de fluidos biológicos tales como sangre entera, orina, fluido cerebrospinal, fluidos de cavidades corporales, etc. han sido evaluadas en cuanto a su contenido de partículas o células haciendo un frotis de una pequeña cantidad sin diluir del fluido en un portaobjetos y evaluando ese frotis bajo un microscopio. Se pueden obtener resultados razonables a partir de tal frotis, pero la exactitud y fiabilidad de los datos dependen en gran medida de la experiencia y técnica del técnico. Además, aunque los frotis de muestras de fluidos biológicos se usan ampliamente para fines de evaluación, la naturaleza intensiva de su trabajo hace que generalmente no sean favorables para aplicaciones comerciales.

15 Otro método conocido para evaluar una muestra de fluido biológico implica diluir un volumen de la muestra, colocarla dentro de una cámara, y evaluar y enumerar manualmente los constituyentes dentro de la muestra diluida. La dilución es necesaria si hay una alta concentración de constituyentes dentro de la muestra, y para recuentos de sangre rutinarios se pueden requerir varias diluciones diferentes, porque no es práctico tener cámaras o aparatos de recuento que puedan examinar volúmenes variables como medios para compensar las disparidades en las poblaciones constituyentes dentro de la muestra. En una muestra de sangre entera de un individuo típico, por ejemplo, hay aproximadamente $4,5 \times 10^6$ células rojas de la sangre (RBCs, por sus siglas en inglés) por microlitro (μl) de muestra de sangre, pero sólo aproximadamente $0,25 \times 10^6$ de plaquetas y $0,007 \times 10^6$ de células blancas de la sangre (WBCs, por sus siglas en inglés) por μl de muestra de sangre. Para determinar un recuento de WBCs, la muestra de sangre entera debe ser diluida dentro de un intervalo de aproximadamente una parte de sangre a veinte partes de diluyente (1:20) hasta una dilución de aproximadamente 1:256 dependiendo de la técnica de dilución exacta usada, y es también necesario, de manera general, lisar de manera selectiva los RBCs con uno o más reactivos. Lisar los RBCs los retira de manera eficaz de la visión, de tal modo que los WBCs se pueden ver. Para determinar un recuento de plaquetas, la muestra de sangre se debe diluir dentro de un intervalo de 1:100 a 1:50.000. Los recuentos de plaquetas, sin embargo, no requieren una lisis de los RBCs en la muestra. Una desventaja de evaluar una muestra de sangre entera de esta manera es que el procedimiento de dilución requiere mucho tiempo y es caro. Además, añadir diluyentes a la muestra de sangre entera aumenta la probabilidad de error en los datos de la muestra. Añadir diluyentes también aumenta la cantidad de material residual que debe ser desechado tras completarse el ensayo.

35 Un método moderno para evaluar una muestra de fluido biológico es la citometría de flujo óptica o por impedancia. La citometría de flujo implica hacer circular una muestra de fluido diluida a través de uno o más orificios de pequeño diámetro, empleando cada una un sensor de tipo impedancia o de tipo óptico que evalúa los constituyentes según pasan a través del orificio en fila de a uno. Usando el ejemplo de la sangre entera de nuevo, la muestra debe ser diluida para mitigar el abrumador número de RBCs en relación a los WBCs y las plaquetas, y para proporcionar un espaciado célula a célula adecuado, de tal modo que se puedan analizar células individuales. Aunque más apropiados y consistentes que los métodos descritos anteriormente, los citómetros de flujo también poseen numerosas desventajas. Algunas de esas desventajas provienen de la instalación de tuberías requerida para llevar la muestra a, y los controles de fluido necesarios para controlar la velocidad de flujo del fluido a través de, los medios sensores. El control preciso de este flujo es esencial para el funcionamiento exacto del citómetro. La instalación de tuberías dentro de los citómetros de flujo puede, y a menudo lo hace, tener fugas, comprometiendo potencialmente la exactitud y la seguridad del equipo. Los controles de flujo del fluido y el equipo de dilución requieren una recalibración periódica. De hecho, la necesidad de recalibración ilustra el potencial para que haya resultados inexactos y los indeseables costes de funcionamiento que existen con muchos analizadores de hematología disponibles en la actualidad que usan orificios de citómetros de flujo y/o de impedancia. El volumen de reactivos requeridos para satisfacer grandes relaciones de dilución aumenta el coste de funcionamiento, inicialmente en virtud del precio de compra de los reactivos y posteriormente debido a los costes adicionales de desecho de residuos.

55 Otro método moderno para evaluar muestras de fluidos biológicos es uno que se centra en evaluar subtipos específicos de WBCs. Este método utiliza una cubeta que tiene una cámara interna de aproximadamente 25 micrómetros de grosor con un panel transparente. Un rayo láser de luz que pasa a través del panel transparente escanea la cubeta en cuanto a los WBCs. Los reactivos añadidos a la muestra causan que cada WBC fluoreszca cuando es excitado por el rayo láser. La fluorescencia de los WBCs particulares proporciona una indicación de qué tipos particulares de WBCs están presentes. Como las células rojas de la sangre forman una capa parcialmente

oscurecedora en este método, no pueden ser enumeradas o evaluadas de otro modo en sí mismas, ni tampoco las plaquetas.

5 Hay una multitud de métodos para determinar la presencia de constituyentes solubles, tales como componentes químicos, anticuerpos, etc., dentro de una muestra de fluido biológico tal como orina, plasma o suero. La mayoría de los métodos requieren la dilución de la muestra y la adición de uno o más reactivos a la muestra. Otros métodos requieren que una pequeña pero cuidadosamente medida gota de muestra de fluido biológico sea añadida a un trozo de película reactiva. Se requieren usualmente diferentes instrumentos analíticos para cada método de análisis, y esos instrumentos son caros, no sólo en términos de coste de capital inicial, sino también en términos del mantenimiento a lo largo de la vida de los diversos instrumentos, y la formación de los operadores necesaria para proveer de personal apropiadamente a los diversos instrumentos. La función de los operadores puede variar considerablemente de instrumento a instrumento, aumentando de este modo la complejidad de la formación de los operadores y el potencial para el error de los operadores. Hasta la fecha, debido a los ampliamente diferentes requerimientos de los diversos ensayos, no hay una única plataforma de instrumentos que realice ensayos interdisciplinarios, lo más especialmente ensayos de hematología, que requieren análisis de partículas, y ensayos de química/inmunología o serología, que requieren análisis de luz cuantitativos.

10 Lo que se necesita es un método y un aparato para evaluar una muestra de fluido biológico sustancialmente sin diluir, uno capaz de proporcionar resultados exactos, uno que no use un volumen significativo de reactivo(s), uno que no requiera flujo del fluido de muestra durante la evaluación, uno que pueda realizar análisis de componentes en partículas y de componentes químicos, y uno que sea rentable.

20 El documento US-5646046 describe un instrumento para realizar automáticamente análisis en relación con la trombosis y hemostasis.

El documento US-5547849 describe un aparato y método para citometría capilar volumétrica. El documento US-4171866 describe un portaobjetos volumétrico desechable.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

25 Es, por tanto, un objeto de la presente invención proporcionar un aparato para analizar muestras de fluidos biológicos que tiene la capacidad de proporcionar datos analíticos para diversas disciplinas, que incluyen, pero no se limitan a, hematología, química biológica, inmunoquímica, serología, inmunología, urinalisis, inmunoensayo, sensibilidad a antibióticos y crecimiento bacteriano.

30 Es otro objeto de la presente invención proporcionar un único aparato para analizar muestras de fluidos biológicos que tiene la capacidad de realizar un mayor número de ensayos que los que se pueden hacer en cualquier dispositivo único disponible actualmente.

35 Es otro objeto de la presente invención proporcionar un único aparato para analizar muestras de fluidos biológicos que usa una muestra estable, y de este modo evita los problemas asociados con dispositivos que utilizan flujo de fluidos, particularmente aquellos que utilizan flujo de fluidos fuera de la cámara de muestras y aquellos que utilizan flujo de fluidos durante el proceso de análisis.

Es otro objeto de la presente invención proporcionar un único aparato para analizar muestras de fluidos biológicos que tiene la capacidad de investigar una muestra de fluidos biológicos en cuanto a una región óptima para realizar un ensayo dado.

40 Es otro objeto de la presente invención proporcionar un aparato para analizar muestras de fluidos biológicos que tiene la capacidad de determinar el volumen de un campo de muestras dado en una cámara de muestras de fluidos.

45 Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un aparato para ensayar una muestra de fluido biológico que reside de manera estable dentro de una cámara. Según un segundo aspecto de la invención, se proporciona un método para ensayar una muestra de fluido biológico de acuerdo con la reivindicación 24. El aparato puede incluir una fuente de luz, un posicionador, un medio para determinar el volumen de un campo de muestras, y un disector de imágenes. La fuente de luz es operable para iluminar un campo de muestras de área conocida o averiguable. El posicionador es operable para cambiar de manera selectiva la posición de una entre la cámara o la fuente de luz una en relación a la otra, permitiendo de este modo la iluminación selectiva de todas las regiones de la muestra. El medio para determinar el volumen de un campo de muestras puede determinar el volumen de un campo de muestras iluminado por la fuente de luz. El disector de imágenes es operable para convertir una imagen de la luz que pasa a través de o emana del campo de muestras en un formato de datos electrónico.

55 Una ventaja de la presente invención es que el aparato de la presente invención para analizar una muestra de fluido biológico es sustancialmente más versátil que cualquier aparato disponible actualmente capaz de analizar fluido biológico. Por ejemplo, la presente invención tiene utilidad en numerosos campos, que incluyen, pero no se limitan a, hematología, química biológica, inmunoquímica, serología, inmunología, urinalisis, inmunoensayos, sensibilidad a antibióticos y crecimiento bacteriano. Desde un punto de vista del equipo, esta versatilidad dará a muchos centros médicos y laboratorios una capacidad analítica que hasta ahora era verdaderamente inasequible debido al coste,

espacio, mano de obra, formación, etc. Cuando se ensaya una muestra de sangre en cuanto a anemia, por ejemplo, es común analizar la muestra usando ensayos hematológicos tales como hemoglobina, hematocrito y recuento de reticulocitos, y también analizar la muestra usando ensayos químicos para establecer la presencia y cantidad de hierro o ferritina, y ensayos inmunoquímicos tales como la vitamina B-12 y el folato. Usando los dispositivos disponibles actualmente, el centro médico o laboratorio recurriría típicamente a un contador de impedancia o sistema de flujo para determinar los parámetros hematológicos, y a un analizador químico o sistema de inmunoquímica para determinar los otros parámetros analíticos, cualquiera de los cuales puede no estar fácilmente disponible para el centro médico o laboratorio. El aparato de la presente invención, en contraste, puede realizar todos estos ensayos. Para los centros médicos y laboratorios que actualmente sí tienen capacidad de análisis de disciplinas múltiples, la presente invención reducirá sustancialmente el coste del equipo, espacio requerido, mano de obra y formación.

La presente invención también puede, en la mayoría de los casos, aumentar el número de ensayos posibles en un dispositivo de análisis en un campo particular. En el campo de la hematología, por ejemplo, el aparato de la presente invención puede ser programado para realizar análisis tales como evaluación de hematocrito y hemoglobina, recuento de células blancas de la sangre, recuento de plaquetas, índices de células rojas de la sangre, morfología de las células rojas de la sangre, diferencial de cinco partes, evaluación de reticulocitos, análisis de subgrupos de células blancas de la sangre, velocidad de sedimentación (ESR, por sus siglas en inglés) y detección de sepsis. Que se sepa, ningún dispositivo único de análisis disponible actualmente puede realizar todos estos análisis.

Otra ventaja del aparato de la presente invención para analizar una muestra biológica es que no requiere dilución sustancial ni aparatos complejos de manejo de fluidos.

Como se indica en los Antecedentes de la Invención, analizar sangre entera en un citómetro de impedancia o de flujo óptico tiene varios inconvenientes relacionados con el grado al que se debe diluir la muestra y la instalación de tuberías interna del dispositivo. El aparato de la presente invención, por el contrario, requiere relativamente poca o ninguna dilución de la muestra biológica, no tiene instalación de tuberías interna, y no requiere calibración externa. Una persona experta en la técnica reconocerá que es una ventaja significativa proporcionar un aparato con fiabilidad aumentada. Específicamente, la ausencia en la presente invención de instalaciones de tuberías elimina la posibilidad de un periodo de inactividad atribuible a fugas en la instalación de tuberías o la debida a un sensor que está mal calibrado. La presente invención también evita los caros contratos de servicio asociados con muchos citómetros de flujo. Quizás, de manera más importante, la ausencia de necesidad de ninguna calibración externa elimina una gran fuente de errores potenciales y una complejidad operacional considerable.

Otra ventaja del aparato de la presente invención para analizar una muestra biológica es que proporciona resultados más rápidos para un juego completo de ensayos. En muchos casos, resultados de ensayo más rápidos suponen mejor cuidado de los pacientes, porque un paciente puede ser evaluado con los resultados de los ensayos en mano, en lugar de la práctica corriente de dar de alta al paciente y requerir que se repita la visita si se encuentran resultados inusuales. Resultados de ensayo más rápidos también permiten al centro médico o laboratorio procesar más muestras de ensayo en un periodo de tiempo dado, aumentando de este modo el número de pacientes que pueden ser ayudados y el flujo de ingresos que emana de lo mismo.

Otra ventaja de la presente invención es su capacidad para investigar una muestra de fluido biológico en cuanto a una(s) región(es) óptima(s) para realizar un ensayo dado. Uno de los problemas comunes en el análisis de muestras biológicas es que la concentración de los constituyentes dentro de la muestra puede variar drásticamente. Los aparatos de análisis disponibles actualmente dan cuentas del espectro de concentraciones de constituyentes realizando varias iteraciones de ensayo. Por ejemplo, si la población de constituyentes dentro de una muestra particular es demasiado grande, se debe crear una segunda iteración de la muestra por dilución para disminuir el número de constituyentes en un volumen dado, o viceversa. Este proceso de dilución aumenta el tiempo de análisis y el coste, y la probabilidad de error en el análisis. La presente invención, en contraste, evita múltiples diluciones usando un recipiente de fluidos biológicos que puede separar los constituyentes y las concentraciones de constituyentes dentro de una cámara, y teniendo medios para conocer qué constituyentes hay, dónde y en qué concentración dentro de la cámara para un análisis dado. Además, la presente invención es capaz de evaluar regiones dentro de la cámara que contiene la muestra comparativamente, para encontrar una región de la muestra que tiene características óptimas para el (los) ensayo(s) a mano. En las situaciones en las que es deseable evaluar la muestra estadísticamente, la presente invención puede ser programada para evaluar una pluralidad de regiones que contienen características aceptables y que los datos sean analizados colectivamente.

Otra ventaja de la presente invención es que proporciona un medio seguro para manejar muestras biológicas. El aparato de la presente invención incluye medios para manejar de manera segura muestras de fluidos biológicos durante el análisis. Los riesgos asociados con el manejo y el desecho de muestras de fluidos biológicos son por consiguiente minimizados.

Estos y otros objetos, rasgos y ventajas de la presente invención llegarán a ser evidentes a la luz de la descripción detallada del mejor modo de llevar a cabo la misma, ilustrado en los dibujos acompañantes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 es una vista gráfica del aparato de la presente invención para analizar una muestra de fluido biológico que reside de manera estable dentro de una cámara.

La FIG. 2 es una vista gráfica de un recipiente para contener una muestra de fluido biológico para análisis.

La FIG. 3 es una vista en sección transversal del recipiente mostrado en la FIG. 2.

5 La FIG. 4 es una vista gráfica de una realización del Módulo Lector de la presente invención, que utiliza fluorescencia para producir una imagen.

La FIG. 5 es una vista gráfica de otra realización del Módulo Lector de la presente invención, que utiliza fluorescencia para producir una imagen.

10 La FIG. 6 es una ilustración gráfica de un campo de muestras entre una primera pared de la cámara y una segunda pared de la cámara.

MEJOR MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCIÓN

Haciendo referencia a las FIGS. 1 y 2, el aparato 10 para analizar una muestra de fluido biológico que reside de manera estable dentro de una cámara incluye un Módulo 12 Lector, un Módulo 14 de Transporte de Muestra, y un Analizador 16 Programable. Para los fines de esta descripción, el término “analizar” y “análisis” serán definidos como cualquier examen o evaluación de la muestra de fluido, que incluye, pero no se limita a, el examen de los constituyentes dentro de la muestra. El aparato 10 de la presente invención se usa preferiblemente con un recipiente 18 particular para contener una muestra de fluido biológico para el análisis. Descrito brevemente, el recipiente 18 incluye al menos una cámara 20, un reservorio 22, un canal 24 (FIG. 3) que conecta la cámara 20 y el reservorio 22, una válvula 26 dispuesta de manera funcional entre el reservorio 22 y la cámara 20, y una etiqueta 28. La cámara 20 (véase la FIG. 3) incluye una primera pared 30 y una segunda pared 32 transparente. En algunas realizaciones, la primera pared 30 es también transparente. La muestra de fluido que reside dentro de la cámara 20 puede ser convertida en imagen a través de una o ambas paredes 30, 32 transparentes. El recipiente 18 incluye además una pluralidad de rasgos operables para permitir el análisis del fluido biológico. Algunos de los rasgos están ubicados espacialmente dentro de la cámara 20, y cada uno tiene una dirección en coordenadas que designa su posición. Otros rasgos pueden incluir reactivos dispuestos dentro del reservorio 22, o una almohadilla 34 de calibración del colorante, etc. La etiqueta 28 del recipiente almacena información que es comunicada al aparato 10 mediante un lector 38 de etiquetas (FIG. 4).

1. El Módulo Lector

Haciendo referencia a las FIGS. 4 y 5, el Módulo 12 Lector incluye el lector 38 de etiquetas mencionado anteriormente, un iluminador 40 de campo, medios para determinar el volumen de un campo de la muestra, y un disector 42 de imágenes. El lector 38 de etiquetas del recipiente es un mecanismo para transferir información desde el recipiente 18 del aparato 10. Un ejemplo práctico de una etiqueta 28 del recipiente es una que es legible por máquina y una que es capaz de comunicar información que incluye, pero no se limita a: 1) el tipo de análisis a ser realizado(s); 2) información concerniente al tipo de rasgos, y las direcciones en coordenadas de aquellos rasgos ubicados dentro de la cámara 20 de muestras; 3) información sobre reactivos; 4) información de lote; 5) datos de calibración; etc. Si, por ejemplo, la etiqueta 28 es una banda magnética o una banda de código de barras, entonces el lector 38 de etiquetas es un dispositivo capaz de leer la banda magnética, la banda de código de barras, etc. En algunos casos, puede ser posible almacenar y extraer toda la información necesaria de la propia etiqueta 28. En otros casos en los que la cantidad de información a ser comunicada es considerable, no obstante, puede ser más práctico tener la etiqueta 28 del aparato 10 dirigida a un archivo de datos almacenado dentro del Analizador 16 Programable o almacenado de manera remota que contiene toda la información apropiada. Los archivos de datos almacenados de manera remota pueden ser accedidos por módem, línea de telecomunicaciones dedicada, Internet, red de área amplia u otros medios de telecomunicación. La etiqueta 28 también puede ser un rasgo físico tal como una marca, cuya posición es interpretable por el lector 38 de etiquetas; p.ej., posiciones de la marca diferentes se refieren a archivos de datos diferentes.

El iluminador 40 de campo incluye una fuente 44 de luz, óptica 46 de objetivo, y preferiblemente un medio 48 de filtración de la luz. La fuente 44 de luz produce de manera selectiva luz en todo un intervalo de longitudes de onda lo suficientemente ancho para ser útil para una pluralidad de análisis (p.ej., aproximadamente 340 nm a 670 nm), desde un mecanismo tal como una lámpara de arco de xenón de cincuenta vatios o una lámpara halógena de tungsteno, o una fuente pulsátil de aproximadamente diez julios. Se pueden usar alternativamente otras fuentes de luz, y el intervalo de longitudes de onda de la fuente de luz puede variar dependiendo de la aplicación. Alternativamente, se puede usar una fuente 44 de luz que produce de manera selectiva longitudes de onda particulares de luz dentro del intervalo identificado anteriormente, o una pluralidad de fuentes 44 de luz, cada una de las cuales produce longitudes de onda particulares dentro del intervalo identificado anteriormente. La óptica 46 de objetivo incluye un mecanismo 50 de enfoque para ajustar la posición de una lente 52 de objetivo en relación al recipiente 18 (o viceversa). La lente 52 de objetivo enfoca la luz que emana de la fuente 44 de luz en un rayo 54 de luz que, a su

- vez, es dirigido hacia la muestra que reside de manera estable dentro de la cámara 20. El rayo de luz dirigido hacia la muestra es de suficiente área para iluminar al menos un campo de imagen formada de la muestra. El campo de la muestra es definido por el área de sección transversal de la imagen de la muestra que entra en contacto con el disector 42 de imágenes, o una parte de la misma, dirigida por la óptica 46 de objetivo y cualesquiera limitadores de campo intervinientes. Los medios 48 de filtración de la luz, cuando están incluidos, se usan para mejorar la calidad y/o claridad de la imagen de muestra deseada para un ensayo dado, o para permitir una medición cuantitativa precisa de la energía de la luz emitida desde, o que pasa a través de, partes relevantes de la muestra. Si la fuente 44 de luz es capaz de producir de manera selectiva longitudes de onda particulares, puede ser posible omitir los medios 48 de filtración de la luz.
- La realización preferida del iluminador 40 de campo varía dependiendo del principio usado para producir la imagen. Haciendo referencia a la FIG. 4, una primera realización del iluminador 40 de campo utiliza fluorescencia para producir una imagen. La primera realización incluye una fuente 44 de luz de tipo tubo de destellos, óptica 46, y un medio 48 de filtración de la luz, el último de los dos cuales incluye una primera lente 56, un filtro 58 de excitación de la fuente de luz (filtro "LSE"), un prisma 60 desviador de la luz, un detector 62 de referencia, una lente 52 de objetivo, un filtro 66 de emisión de la muestra (filtro "SE"), una segunda lente 67, y un mecanismo 50 de enfoque. El prisma 60 desviador de la luz puede ser un prisma polarizador, un divisor de rayos dicróico, o un espejo o prisma con una mitad recubierta de plata. La primera lente 56 recoge la luz que emana del tubo de destellos, o fuente alternativa de iluminación, y la dirige hacia el filtro 58 LSE. El filtro 58 LSE permite que la luz de una(s) longitud(es) de onda predeterminada(s) pase a través suyo (esta función también se puede describir como que bloquea el paso de todas excepto las longitudes de onda predeterminadas) y continúe, donde choca con el prisma 60 desviador de la luz. Entonces una parte de la luz pasa a través del prisma 60 desviador de la luz, y choca con el detector 62 de referencia posicionado adyacente al prisma 60 desviador de la luz. La retroalimentación del detector 62 de referencia permite medir la energía de la luz de excitación filtrada. Dado que la emisión de fluorescencia es directamente proporcional a la energía de la excitación de fluorescencia, se pueden usar cualesquiera variaciones en la energía de la luz de excitación, medida por el detector 62 de referencia, bien para ajustar la intensidad de la fuente de emisión o bien para calcular una energía de emisión corregida. Otra parte de la luz que entra en el prisma 60 desviador de la luz es reflejada aproximadamente noventa (90) grados hacia abajo a través de la lente 52 de objetivo y posteriormente hacia la cámara 20 del recipiente, donde la muestra de fluido biológico reside de manera estable. La lente 52 de objetivo está unida al mecanismo 50 de enfoque que permite que la distancia entre la lente 52 de objetivo y la cámara 20 sea variada según sea necesario para fines de enfoque. Un motor de etapas controlable dispuesto para cambiar la distancia focal entre la lente 52 de objetivo y el recipiente 18 es un ejemplo de un mecanismo 50 de enfoque. Por regla general, la lente 52 de objetivo es movida en relación al recipiente 18, o viceversa, pero se pueden usar métodos alternativos. Las longitudes de onda de la luz que pasa a través del filtro 58 LSE y la lente 52 de objetivo entran posteriormente en la muestra, causando que el material dentro de la muestra que lleva un colorante elegido fluoreszca y emita luz de una longitud de onda particular. Esa luz emitida pasa de vuelta a través de la lente 52 de objetivo, a través del prisma 60 desviador de la luz, y después a través del filtro 66 SE. El filtro 66 SE bloquea todas excepto (o deja pasar) longitudes de onda seleccionadas de luz. Esas longitudes de onda de luz pasan posteriormente a través de la segunda lente 67 y se encuentran con el disector 42 de imágenes. El filtro 66 SE es preferiblemente un filtro de pantalla de cristal líquido (LCD) sintonizable.
- Si hay más que un filtro 58 LSE, los filtros 58 LSE están unidos a una primera rueda 68 de filtro. La primera rueda 68 de filtro está sincronizada con la fuente 44 de luz, de tal modo que la fuente 44 de luz es accionada de manera selectiva cuando el filtro 58 LSE deseado está posicionado en el camino del rayo 54 de luz descrito anteriormente. Asimismo, si hay más que un filtro 66 SE, los filtros 66 SE están unidos a una segunda rueda 70 de filtro. La segunda rueda 70 de filtro está sincronizada con la fuente 44 de luz, de tal modo que la fuente 44 de luz es accionada de manera selectiva cuando el filtro 66 SE deseado está posicionado en el camino del rayo 54 de luz. Si hay más que un filtro 58 LSE y más que un filtro 66 SE, entonces la primera y segunda ruedas 68,70 de filtro y la fuente 44 de luz están sincronizadas de tal modo que la fuente 44 de luz es accionada de manera selectiva cuando los filtros 58, 66 LSE y SE deseados están posicionados en el camino del rayo 54 de luz.
- Haciendo referencia a la FIG. 5, la segunda realización del iluminador 40 de campo utiliza la transmitancia para producir una imagen. En la segunda realización del iluminador 40 de campo, la medición de las propiedades de transmisión de la luz de la muestra se lleva a cabo posicionando una fuente 44 de luz blanca y una primera lente 56 bajo la muestra que reside dentro de la cámara 20 y dirigiendo la luz a través de la primera pared 30 de la cámara (que es transparente en esta realización), la muestra, la segunda pared 32 de la cámara, la lente 52 de objetivo, el filtro 66 SE, la segunda lente 67, y después de eso al disector 42 de imágenes. La luz de transmitancia es energizada intermitentemente según se requieran mediciones de transmitancia. La fuente 44 de luz puede ser pulsátil, tal como la de un tubo de destellos, o puede ser una bombilla incandescente con un medio para exponer de manera selectiva la muestra a la luz, tal como un obturador, o un interruptor electrónico que extinga la luz enteramente.
- El disector 42 de imágenes preferido es un dispositivo de carga acoplada (CCD, por sus siglas en inglés) capaz de proporcionar al menos ocho bits de resolución y preferiblemente doce bits de resolución por píxel. El disector 42 de imágenes convierte una imagen de la luz que pasa a través del filtro 66 SE en un formato de datos electrónico que se puede ver y/o interpretar en tiempo real o en un tiempo posterior usando una versión de fichero de datos de la imagen. La imagen puede ser interpretada manualmente por un técnico, o con el uso de un software analítico. Se

puede usar un disector 42 de imágenes distinto al CCD para convertir la imagen de la luz en un formato de datos electrónico alternativamente.

5 Haciendo referencia a la FIG. 6, como se emplea en la presente memoria, el término "volumen" para el volumen del campo puede significar el volumen en sí, o puede hacer referencia al grosor 78 del plano transversal del campo de imagen, porque uno se puede determinar fácilmente a partir del otro dada el área de sección transversal del campo. Como se emplea en la presente memoria, el término "grosor del plano transversal" se refiere a una línea de visión que corresponde a la distancia 78 más corta entre la superficie 80 interior de la cámara de la primera pared 30 y la superficie 82 interior de la cámara de la segunda pared 32.

10 Haciendo referencia a las FIGS. 3 y 4, en una primera realización de los medios para determinar el volumen de uno o más campos dentro de la muestra, el lector 38 de etiquetas lee la etiqueta 28 del recipiente que comunica la geometría de la cámara 20 al aparato 10, y con esa información el volumen del campo puede ser determinado. Por ejemplo, si la etiqueta 28 proporciona los valores de pendiente de la primera pared 30 de la cámara y la segunda pared 32 y un valor de grosor 78 de plano transversal, el volumen de un campo en cualquier posición dentro de la cámara 20 puede ser determinado, a condición de que los valores de pendiente sean constantes para ambas paredes 30, 32 para la cámara 20 entera.

15 En una segunda realización de los medios para determinar el volumen de uno o más campos seleccionados dentro de la muestra, el volumen se determina detectando con un sensor la señal del colorante de un campo de muestra de volumen desconocido que contiene una muestra de fluido que tiene una concentración de colorante conocida. La relación de la magnitud de la señal del colorante a la concentración de colorante es comunicada al aparato 10 mediante la etiqueta 28 del recipiente y el lector 38 de etiquetas. Como se emplea dentro de esta memoria descriptiva, el término colorante se define como cualquier reactivo que produce una señal sensible por emisión fluorescente, o por absorción de luz a una longitud de onda específica, que puede ser cuantificada por el aparato 10. La relación de la magnitud de la señal a la concentración de colorante también se puede determinar por comparación con un segundo material conocido tal como una almohadilla 34 de material con características estables que es referenciado por el aparato 10 y usado para calibrar la respuesta del colorante.

20 En una tercera realización de los medios para determinar el volumen de uno o más campos seleccionados, el volumen se determina comparando la señal del colorante de al menos dos campos de muestra. El primer y segundo campos de muestra contienen colorante de concentración desconocida distribuido uniformemente dentro de la muestra de fluido. El primer campo, denominado aquí el campo de calibración, contiene un rasgo geométrico de altura o volumen conocidos. Los ejemplos de características geométricas incluyen un escalón, una cavidad o una protuberancia de altura o volumen conocidos dentro de una o ambas paredes, o un objeto de volumen conocido. El volumen o altura de la característica geométrica es proporcionado al Analizador 16 Programable mediante la etiqueta 28 del recipiente y el lector 38 de etiquetas. El cambio en la señal sensible debido al desplazamiento del colorante por el rasgo conocido en el campo de calibración se mide mediante el iluminador 40 de campo, y el Analizador 16 Programable calcula y almacena un valor de calibración del cambio en la señal sensible por volumen. Para determinar el volumen del campo segundo o desconocido, el Analizador 16 Programable toma la señal medida del segundo campo y la multiplica por la relación señal/volumen del campo de calibración para llegar a un volumen para el segundo campo.

30 En una cuarta realización de los medios para determinar el volumen de uno o más campos seleccionados, el volumen del (de los) campo(s) se determina usando técnicas interferométricas para medir el grosor del plano transversal. El hardware necesario para realizar las técnicas interferométricas incluye una fuente de luz monocromática y un divisor de rayos que funcionan juntos para formar patrones de interferencia, en los que el número de franjas de interferencia observables está relacionado con la separación de las paredes 30, 32 de la cámara.

35 En una quinta realización de los medios para determinar el volumen de uno o más campos seleccionados, la cámara 30 del recipiente incluye superficies especulares sobre las cuales una imagen reflejada virtual puede ser detectada por el aparato 10. Las superficies especulares son las dos superficies 80, 82 de las paredes en contacto con el fluido biológico, o las superficies exteriores si los grosores de las paredes son conocidos. El aparato 10 detecta la imagen reflejada virtual sobre una de las superficies especulares, y después se reenfoca sobre la imagen reflejada virtual formada sobre la otra superficie especular. La distancia que recorre la óptica 46 iluminadora de campo entre las dos imágenes es el grosor 78 del plano transversal de la cámara 20 en el campo particular. Una sexta y relacionada realización es el uso de patrones identificables sobre cada una de las dos superficies 80, 82 de la cámara, donde estos patrones se usan como dianas focales, a diferencia de las imágenes virtuales usadas en la quinta realización.

II. El Módulo de Transporte de Muestras

40 El Módulo 14 de Transporte de Muestras incluye un mecanismo 84 para transferir la muestra de fluido biológico desde el reservorio 22 del recipiente hasta la cámara 20 del recipiente y un posicionador 86 del recipiente. Cuando se usa el recipiente 18 preferido, el mecanismo 84 incluye un accionador de válvula, por ejemplo la varilla 90, que acciona de manera selectiva la válvula 26 del recipiente para transferir la muestra de fluido desde el reservorio 22 del recipiente hasta la cámara 20 del recipiente. El mecanismo 84 para transferir la muestra de fluido desde el

reservorio hasta la cámara puede estar automatizado o ser manual, y en todos los casos es suficiente para operar la válvula 26, si hubiera, dispuesta en el recipiente 18. Para los ensayos que no están relacionados con el tiempo, la muestra de fluido biológico puede ser colocada directamente en la cámara 20 del recipiente, obviando de este modo la necesidad de un reservorio 22, una válvula 26 y un accionador 90 de válvula.

5 En todas sus realizaciones, el posicionador 86 es operable para cambiar de manera selectiva la posición de uno entre el recipiente 18 o el iluminador 40 de campo en relación al otro entre el recipiente 18 o el iluminador 40 de campo, de tal modo que todas las regiones de la muestra dentro de la cámara 20 pueden ser iluminadas de manera selectiva y producirse una imagen. El recipiente 18 puede ser situado inicialmente en relación al iluminador 40 de campo por medio de un rasgo reconocible (p.ej., una muesca en el recipiente 18), de tal modo que una vez que el
10 iluminador 40 de campo localiza el rasgo reconocible, se puede acceder a todos los demás rasgos dentro de la cámara 20 en virtud de su dirección en coordenadas. En una realización simplista, el posicionador 86 podría incluir un par de ruedas manuales engranadas a una bandeja 87 (o al iluminador 40 de campo), de tal modo que la bandeja 87 (o el iluminador 40 de campo) pueden ser movidos en un plano rotando las ruedas manuales, de una manera similar a la de una platina de microscopio. En una segunda realización, el posicionador 86 incluye accionadores 98
15 electromecánicos para mover el recipiente 18 desechable en el plano (p.ej., el plano x-y) en relación al campo del que se ha producido una imagen (o viceversa). Los accionadores 98 pueden ser cualquier dispositivo electro-mecánico que pueda posicionar de manera exacta y repetible el recipiente 18 y mantener esa posición hasta que se dirija de otra manera. Para los análisis que requieren la mezcla de la muestra biológica y un reactivo, los accionadores 98 también pueden ser capaces de mover el recipiente 18 de una manera que causa que la muestra y
20 el reactivo se mezclen dentro del reservorio 22.

III. El Analizador Programable

Haciendo referencia a las FIGS. 1 y 4, como se indicó anteriormente, el Analizador 16 Programable se describe en la presente memoria como un dispositivo autónomo que está en comunicación con el Módulo 12 Lector y el Módulo 14 de Transporte de Muestras. El Analizador 16 Programable podría, alternativamente, estar agrupado con el Módulo
25 12 Lector y el Módulo 14 de Transporte de Muestras en un único dispositivo.

El Analizador Programable incluye una unidad central de proceso (CPU) y un hardware que conecta entre sí el Módulo 12 Lector, el Módulo 14 de Transporte de Muestras y el Analizador 16 Programable. El software programado en la CPU (o accesible de manera remota por la CPU) proporciona juegos de instrucciones, denominados en adelante algoritmos de análisis, que detallan todas las etapas necesarias para realizar diversos análisis. Alternativa-
30 mente pueden ser provistos directamente juegos de instrucciones simplistas al Analizador 16 Programable mediante la etiqueta 28 del recipiente y el lector 38 de etiquetas. El Analizador 16 Programable incluye preferiblemente además un dispositivo 100 de entrada de tipo teclado/teclado numérico y un dispositivo 102 de pantalla de tipo monitor. Están disponibles en el mercado diversos teclados/teclados numéricos y monitores aceptables, y por tanto no se describirán adicionalmente. La CPU está programada para controlar el Módulo 12 Lector y el Módulo 14 de
35 Transporte de Muestras, dirigirlos para realizar tareas según el algoritmo de análisis a mano. La CPU también está programada para recibir y manipular el formato de datos electrónicos de la imagen de la muestra de fluido (denominados en adelante generalmente como "datos") producido por el disector 42 de imágenes. Los algoritmos de análisis y/o la entrada del operador y/o la etiqueta 28 del recipiente proporcionan las instrucciones para manipular los datos en una salida útil.

40 La programación de la CPU refleja el nivel de automatización del aparato 10. En el caso de la realización simplista del posicionador 86, no se proporciona programación del posicionador porque se usan ruedas accionadas manualmente en lugar de automatización. Asimismo, el mecanismo 84 para transferir la muestra biológica desde el reservorio 22 del recipiente hasta la cámara 20 del recipiente también se puede accionar manualmente. En una realización automatizada, la programación almacenada dentro de la CPU o accedida de manera remota por la CPU
45 (y/o la entrada del teclado 100) permite a la CPU, por ejemplo, controlar el lector 38 de etiquetas para extraer información de la etiqueta 28 del recipiente, transferir la muestra biológica desde el reservorio 22 del recipiente hasta la cámara 20 del recipiente, y controlar el movimiento del recipiente 18 en relación al Módulo 12 Lector (o viceversa).

Son los algoritmos de análisis programados en la CPU los que dan al aparato de la presente invención su versatilidad y capacidad de realizar análisis en diversas disciplinas. Los algoritmos están contruidos para utilizar los rasgos del recipiente 18 así como las capacidades del aparato 10, tales como la capacidad del Módulo 12 Lector de
50 determinar el volumen de uno o más campos de muestra seleccionados y la capacidad del Módulo 14 de Transporte de Muestras de mover el recipiente 18 para permitir el acceso a cualquier campo de muestra. Como visión general de cómo funcionarían tales algoritmos, cuando el recipiente 18 se carga en el aparato 10, la etiqueta 28 del recipiente es leída, proporcionando de este modo al Analizador 16 Programable suficiente información para determinar qué ensayo(s) se solicita(n) y la información necesaria para realizar ese ensayo. El Analizador 16 Programable se programa para usar la información de la etiqueta para acceder al algoritmo de análisis apropiado y en algunos casos a ficheros de datos almacenados dentro del Analizador 16 (o almacenados de manera remota) también. El algoritmo de análisis, a su vez, proporciona las instrucciones etapa por etapa necesarias para dirigir el
55 Módulo 14 de Transporte de Muestras y el Módulo 12 Lector, y cualesquiera otras funciones necesarias en la realización del ensayo.

Las instrucciones pueden dirigir al Módulo 12 Lector para que accione la válvula 26 del recipiente, transfiriendo de este modo la muestra de fluido desde el reservorio 22 hasta la cámara 20. Para los análisis que están relacionados con el tiempo, el accionamiento de la válvula se puede usar para iniciar el periodo de tiempo. El Módulo 12 Lector también se puede usar para monitorizar visualmente la cámara 20, para determinar si o cuándo una cantidad óptima de muestra ha alcanzado la cámara 20. Las instrucciones también pueden dirigir al Módulo 12 Lector, en base a la información proporcionada mediante la etiqueta 28 del recipiente, para usar los filtros 58, 66 particulares apropiados para longitudes de onda particulares, o para mover el recipiente 18 a posiciones particulares para proporcionar al Módulo 12 Lector acceso a campos particulares, etc. Cuando el ensayo a mano exige una medición química, por ejemplo, el algoritmo analítico identificado mediante la etiqueta 28 exigirá las mediciones necesarias para determinar la densidad óptica del campo. La concentración del analito puede ser calculada posteriormente por el Analizador 16 Programable usando un algoritmo de análisis que usa datos de calibración comunicados mediante la etiqueta 28 del recipiente. Para análisis de hematología, por otra parte, un algoritmo de análisis puede dirigir que un campo sea investigado para imágenes de un tipo celular particular, para fines de enumeración o evaluación. El algoritmo puede dirigir que un único campo, el más óptimo, sea considerado, o, lo más preferiblemente, que sean considerados campos múltiples y los resultados sean analizados estadísticamente para obtener un resultado final estadísticamente aceptable. En uno o más puntos durante los análisis, el volumen del campo de muestra puede ser determinado, si se requiere para el análisis, y ese dato ser usado en el cálculo de los resultados finales.

Como se indicó anteriormente, la considerable utilidad del aparato 10 permite que se realice una amplia variedad de análisis de una única muestra, usando un único recipiente 18 analítico. Los ejemplos detallados dados a continuación se ofrecen para que se pueda obtener una completa apreciación del aparato de la presente invención.

Ejemplo I: Análisis Hematológicos

Haciendo referencia a la FIG. 4, para permitir un análisis de las células blancas de la sangre (WBCs) dentro de una muestra de sangre entera anticoagulada, un recipiente 18 que tiene aproximadamente 0,8 microgramos (μg) de un colorante sensible y 50 μl de sangre entera anticoagulada dispuesta dentro de su reservorio 22 se inserta en el Módulo 14 de Transporte de Muestra. Antes de la inserción, el operador puede agitar suavemente el recipiente 18 para asegurar la mezcla uniforme del colorante y la muestra de fluido. El lector 38 de etiquetas dispuesto dentro del Módulo 14 Lector lee la etiqueta 28 del recipiente y transfiere la información contenida dentro de la etiqueta 28 al Analizador 16 Programable. En este ejemplo, la información identifica uno o más algoritmos de análisis específicos a ser usados y una pluralidad de rasgos del recipiente operables para permitir el análisis de la muestra de fluido biológico. Los rasgos incluyen identificar el agente anticoagulante como AEDT, el colorante sensible como una tinción supravital resaltante fluorescente tal como naranja de acridina (o naranja-21 básico o similar) y características físicas de la cámara 20 del recipiente y las direcciones en coordenadas de esas características físicas dentro de la cámara 20. Para este análisis particular, sólo la segunda pared 32 de la cámara 20 del recipiente necesita ser transparente, dado que se está usando una tinción fluorescente. En todos los casos, son los rasgos del recipiente 18 y las capacidades del aparato 10 de utilizar esos rasgos los que permiten que el aparato 10 realice una pluralidad de ensayos en una única muestra.

Haciendo referencia a las FIGS. 3 y 4, el Analizador 16 Programable dirige después la varilla 90 dentro del Módulo 12 Lector para accionar la válvula 26 dentro del recipiente 18 y liberar de este modo la mezcla de muestra y colorante en la cámara 20. Una vez que la muestra es distribuida dentro de la cámara 20, la muestra reside de manera estable. El único movimiento de la muestra dentro de la cámara 20 será posiblemente un movimiento Browniano de los constituyentes que forman la muestra, y ese movimiento no deshabilita la presente invención. Usando la información proporcionada mediante la etiqueta 28 del recipiente, el algoritmo de análisis dirige en posicionador 86 para mover el recipiente 18 hasta una posición en la que el iluminador 40 de campo se alinee con una primera región de la cámara 20, y en particular con uno de una pluralidad de campos que tienen un grosor 78 de plano transversal de aproximadamente veinte micrómetros. La dirección en coordenadas de cada uno de estos campos es conocida y comunicada al Analizador 16 Programable mediante la etiqueta 28. El grosor 78 del plano transversal de la cámara de aproximadamente veinte micrómetros se elige por un par de razones. Primero, un volumen de evaluación de 0,02 μl (formado por un campo de muestra particular que tiene un área de sección transversal de un milímetro (mm) y un grosor 78 de plano transversal de veinte micrómetros) contiene típicamente 50-200 WBCs, la cual es una cantidad favorable para fines evaluativos. El área de sección transversal referida es el área de la muestra de la que es producida una imagen por el iluminador 40 de campo como se describe anteriormente. Segundo, un grosor 78 de plano transversal de veinte micrómetros proporciona una óptima cámara 20 para la formación de pilas de eritrocitos y lagunas.

Si una imagen de la muestra es producida por el aparato 10 inmediatamente después de que la muestra ha sido insertada en la cámara 20, la muestra aparecerá opaca cuando se examine con la fluorescencia epi-iluminada, y no será favorable para el análisis. La apariencia opaca es causada por las células rojas de la sangre (RBCs), que forman una masa superpuesta antes de la formación de las pilas de eritrocitos. Para evitar una imagen opaca indeseable, el algoritmo de análisis almacenado dentro del Analizador 16 Programable proporciona una función de medida del tiempo en la que el funcionamiento del iluminador 40 de campo es retrasado durante un periodo de aproximadamente treinta (30) segundos después de que la muestra haya sido introducida en la cámara 20. Durante ese tiempo, el Analizador 16 Programable puede posicionar los filtros 58, 66 SE o LSE apropiados, si los hubiera, dentro del camino del rayo 54 de luz dentro del iluminador 40 de campo. Después del retraso, la luz producida de

manera selectiva por la fuente 44 de luz y filtrada dentro del iluminador 40 de campo es dirigida hacia un campo de la muestra dentro de la cámara 20. La luz que pasa en la muestra causa que el colorante dentro de la muestra fluoresca y emita luz de una longitud de onda particular. La luz emitida pasa después a través del iluminador 40 de campo y hacia el disector 42 de imágenes, donde es convertida en un formato electrónico en tiempo real.

5 El formato electrónico de la imagen emitida, que puede ser mostrado en tiempo real en el monitor 102, mostrará que después de reposar sustancialmente sin movimiento durante aproximadamente treinta (30) segundos dentro de la cámara 20, los RBCs se habrán agrupado espontáneamente en una pluralidad de pilas separadas por lagunas. Es en las lagunas donde los constituyentes de la muestra de sangre entera distintos a los RBCs (p.ej., WBCs y plaquetas) pueden ser encontrados y evaluados. Usar campos de muestra de 0,02 μ l mantiene razonable el número de WBCs en cada campo (una muestra de sangre entera normal contiene aproximadamente 7.000 WBCs por μ l de muestra; una muestra de 0,02 μ l de sangre entera normal contiene aproximadamente 140 WBCs). Se evalúan varios campos dentro de la primera región hasta que se cuenta un número estadísticamente suficiente de células, que en la práctica es aproximadamente 1000 células.

15 Haciendo referencia a las FIGS. 1 y 4, en el caso que se determine mediante el algoritmo de análisis que la población de WBCs de la muestra dentro de los campos de la primera región sea demasiado baja para obtener información estadísticamente exacta, el Analizador 16 Programable dirige al Módulo 12 Lector para que realice el proceso de evaluación de nuevo, esta vez en una segunda región de la cámara 20 que tenga una pluralidad de campos con un grosor 78 de plano transversal ligeramente más grande que veinte micrómetros. El volumen más grande de los campos dentro de la segunda región es más apto para tener una muestra con una población de WBCs estadísticamente aceptable. Asimismo, si la población de WBCs dentro de la muestra es demasiado alta para obtener información estadísticamente exacta de los campos dentro de la primera región de la cámara 20, el Analizador 16 Programable dirige al Módulo 12 Lector para que realice el proceso de evaluación de nuevo, esta vez en una tercera región de la cámara 20 que tenga una pluralidad de campos con un grosor 78 de plano transversal ligeramente más pequeño que veinte micrómetros y en consecuencia menor volumen. En cada caso, las direcciones en coordenadas de los campos en cada región son conocidas y comunicadas al Analizador 16 Programable mediante la etiqueta 28. El proceso iterativo descrito anteriormente para encontrar una región que posea un número óptimo de WBCs constituyentes dentro de la muestra de sangre entera anticoagulada sustancialmente sin diluir es un ejemplo de la capacidad del aparato de producir óptimos resultados para un análisis dado.

25 Si se busca información adicional sobre los WBCs, los WBCs (linfocitos, granulocitos, monocitos, etc.) pueden ser analizados dentro de la muestra usando el disector 42 de imágenes del Módulo 12 Lector, por ejemplo, solo o con software de análisis. Se podría determinar un recuento diferencial a partir de los datos recogidos.

Ejemplo II: Análisis Químicos

35 Haciendo referencia a las FIGS. 1 y 4, un recuento de sangre completo requiere que los RBCs sean evaluados en cuanto al contenido de hemoglobina usando un análisis químico. El operador deposita la muestra de sangre entera en el reservorio 22 del recipiente y agita suavemente el recipiente 18 para asegurar la mezcla uniforme de la muestra y un colorante previamente depositado en el reservorio 22, e inserta el recipiente 18 en el Módulo 12 Lector. El lector 38 de etiquetas lee la etiqueta 28 del recipiente y transfiere la información contenida dentro de la etiqueta 28 al Analizador 16 Programable. De manera similar al proceso descrito anteriormente, la información proporcionada por la etiqueta identifica una pluralidad de algoritmos de análisis y una pluralidad de rasgos del recipiente operables para permitir el análisis de la muestra de fluido biológico. En este ejemplo, los rasgos del recipiente incluyen reactivos de lisis y estabilizantes y su posición dentro de una cámara 20, el colorante depositado en el reservorio, y características físicas de la cámara 20. En una primera realización, el recipiente 18 incluye una primera cámara y una segunda cámara, ambas en comunicación fluida con el reservorio 22. La evaluación de hemoglobina se realiza en la primera cámara y el resto de los ensayos de recuento completo de la sangre se realiza en la segunda cámara. En una segunda realización, todos los ensayos necesarios para el recuento completo de la sangre, incluyendo la evaluación de hemoglobina, se hacen en una única cámara 20. El reactivo de lisis se usa para romper los RBCs dentro de la muestra y liberar de este modo la hemoglobina almacenada dentro de los RBCs. EL reactivo estabilizador se usa para aumentar la fiabilidad de la evaluación de hemoglobina.

50 Después de que el recipiente 18 se carga en el Módulo 12 Lector, el Analizador 16 Programable dirige la varilla 90 para accionar la válvula 26 del recipiente y liberar de este modo la mezcla de la muestra y colorante en la primera cámara. Al mismo tiempo que la válvula 26 es accionada, el algoritmo de análisis almacenado dentro del Analizador 16 Programable inicia un temporizador interno, y el análisis de hemoglobina se realiza después de uno o más intervalos predeterminados de tiempo. El algoritmo de análisis para la evaluación de hemoglobina opera de una manera similar a la descrita anteriormente en el ejemplo de hematología, en el que el Analizador 16 Programable posiciona los filtros 58, 66 SE o LSE apropiados, si los hubiera, dentro del camino del rayo 54 de luz dentro del iluminador 40 de campo, y el rayo 54 de luz producido de manera selectiva desde la fuente 44 de luz y filtrado dentro del iluminador 40 de campo es dirigido hacia la muestra que reside de manera estable dentro de la primera cámara formando un campo que tiene un área de la que se produce una imagen, etc. La luz emitida desde el colorante dentro de la muestra pasa de vuelta a través del iluminador 40 de campo y hacia el disector 42 de imágenes, donde es convertida en un formato electrónico en tiempo real, y la densidad óptica de la hemoglobina en la primera cámara es medida y la concentración de hemoglobina es calculada. Los análisis restantes asociados con un recuento

completo de la sangre se realizan en la segunda cámara.

En la segunda realización, en la que todos los análisis de recuento completo de la sangre se realizan en una única cámara 20, la porción de la muestra de fluido biológico usada para la evaluación de hemoglobina es contigua a la porción restante de la muestra de fluido. La porción de la muestra de fluido dedicada a la evaluación de hemoglobina es orientada preferiblemente hacia un lado de la cámara 20, no obstante, para minimizar la mezcla potencial del agente de lisis con la parte restante de la muestra de fluido. Las direcciones en coordenadas de los reactivos de evaluación de hemoglobina y la región de la cámara donde se realiza mejor la evaluación son comunicadas al Analizador 16 Programable por medio de la etiqueta 28. El grosor 78 del plano transversal de la cámara en la región de la evaluación de hemoglobina es lo suficientemente pequeño para que la difusión vertical (y equilibrio último) de los reactivos químicos dentro de la muestra de fluido biológico se produzca a una velocidad mucho más rápida que la difusión lateral, impidiendo de este modo la difusión lateral del reactivo y posibles interferencias con los análisis a ser realizados.

Ejemplo III: Urinálisis

Haciendo referencia a las FIGS. 1 y 4, un urinálisis completo requiere un análisis químico y un análisis de partículas de la muestra de orina. El operador pone una muestra de orina dentro del reservorio 22 del recipiente 18, y el recipiente 18 es instalado dentro del Módulo 12 Lector. El lector 38 de etiquetas lee la etiqueta 28 del recipiente y transfiere la información contenida en la misma al Analizador 16 Programable. La información de la etiqueta 28 identifica una pluralidad de algoritmos de análisis y rasgos del recipiente operables para permitir el análisis de la muestra de fluido biológico, y como el ejemplo de la hemoglobina anterior, los análisis se pueden realizar en una única cámara 20 o en una pluralidad de cámaras. En este ejemplo, la etiqueta 28 proporciona información de que los rasgos del recipiente incluyen un colorante dispuesto en el reservorio 22 del recipiente, uno o más reactivos químicos dispuestos en direcciones de coordenadas particulares dentro de una cámara 20 para relacionar colorimétricamente información concerniente a la gravedad específica, pH, glucosa y cetonas dentro de la muestra de orina después de un periodo de tiempo dado, y las características físicas de la cámara 20 que permiten la detección, evaluación y/o enumeración de partículas dentro de la muestra de orina. Las características físicas de la cámara 20 pueden ser, por ejemplo, similares a las descritas anteriormente para la evaluación de los WBCs, donde una pluralidad de regiones de diferente grosor 78 de plano transversal pueden ser accedidas de manera iterativa para proporcionar resultados óptimos.

El Analizador 16 Programable dirige la varilla 90 dentro del Módulo 12 Lector para accionar la válvula 26 dentro del recipiente 18 y de este modo liberar la mezcla de la muestra y colorante en la(s) cámara(s) 20. El algoritmo de análisis almacenado dentro del Analizador 16 Programable inicia un temporizador interno cuando la muestra es liberada en la(s) cámara(s) 20, y el análisis químico se realiza en algún momento después de eso. Usando el algoritmo de análisis para urinálisis, el Analizador 16 Programable posiciona los filtros 58, 66 SE o LSE apropiados, si los hubiera, dentro del camino del rayo 54 de luz dentro del iluminador 40 de campo, y el rayo 54 de luz producido de manera selectiva desde la fuente 44 de luz y filtrado dentro del iluminador 40 de campo es dirigido hacia la muestra que reside de manera estable dentro de la cámara 20. La luz emitida desde el colorante dentro de la muestra pasa de vuelta a través del iluminador 40 de campo y hacia el disector 42 de imágenes, donde es convertida en un formato electrónico en tiempo real. Los análisis restantes asociados con un urinálisis se pueden realizar en una segunda cámara o en una región contigua de la misma cámara 20.

Aunque esta invención ha sido mostrada y descrita con respecto a las realizaciones detalladas de la misma, los expertos en la técnica entenderán que se pueden hacer diversos cambios en forma y detalle de la misma sin apartarse del alcance de la invención definida en las reivindicaciones. Por ejemplo, el mejor modo en que se describe el aparato 10 es que se use con un recipiente 18 de muestras particular. Se pueden usar recipientes alternativos con el aparato de la presente invención. Además, se describe que el iluminador de campo tiene un prisma 60 desviador de la luz y una pluralidad de lentes 52, 56 y 67. Diferentes posiciones del filtro, o ningún filtro en absoluto, pueden aumentar o eliminar la necesidad de ciertos prismas desviadores de la luz y lentes.

REIVINDICACIONES

1. Un aparato para ensayar una muestra de fluido biológico que reside de manera estable dentro de una cámara (20), comprendiendo dicho aparato:
 - 5 un iluminador (40) de campo para iluminar de manera selectiva un campo de la muestra, teniendo dicho campo un área conocida o averiguable;
 - un posicionador (86), que es operable para cambiar de manera selectiva la posición de uno de la cámara (20) o dicho iluminador de campo en relación al otro de la cámara o dicho iluminador de campo, permitiendo de este modo la iluminación selectiva de una pluralidad de dichos campos de muestra dentro de la cámara;
 - 10 un disector (42) de imágenes, para convertir una imagen de la luz que pasa a través o emana de cada uno de dichos campos de la muestra en un formato de datos electrónico útil para fines de ensayo; caracterizado por comprender además:
 - medios para determinar uno de un grosor (78) de plano transversal o un volumen de cada uno de dichos campos de muestra.
- 15 2. Un aparato según la reivindicación 1, que comprende además medios para recuperar información que concierne al recipiente (18), información que se usa en la realización de uno o más ensayos en la muestra de fluido biológico por dicho aparato.
3. Un aparato según la reivindicación 2, en el que dichos medios para recuperar información incluyen un lector (38) de etiquetas para leer una etiqueta (28) relacionada con la cámara (20).
4. Un aparato según la reivindicación 3, en el que dicho lector (38) de etiquetas lee ópticamente las etiquetas (28).
- 20 5. Un aparato según la reivindicación 3, en el que dicho lector (38) de etiquetas lee magnéticamente las etiquetas (28).
6. Un aparato según la reivindicación 3, que comprende además:
 - un analizador (16) programable que tiene una unidad central de proceso;
 - 25 en el que dicho lector (38) de etiquetas transfiere dicha información a dicho analizador programable, y dicho analizador programable interpreta dicha información, identificando dichos uno o más ensayos a ser realizados en la muestra de fluido biológico.
7. Un aparato según la reivindicación 6, en el que dicho analizador programable (16) contiene una pluralidad de instrucciones para realizar dichos uno o más ensayos.
8. Un aparato según la reivindicación 7, en el que dicha pluralidad de instrucciones están contenidas de manera remota de dicho analizador (16) programable y son accedidas mediante dicho analizador programable.
- 30 9. Un aparato según la reivindicación 7, en el que dicha pluralidad de instrucciones incluye medios para controlar dicho iluminador (40) de campo y dicho posicionador (86).
10. Un aparato según la reivindicación 9, en el que dicho posicionador (86) incluye medios para situar espacialmente dicha cámara (20) en relación a dicho iluminador (40) de campo;
 - 35 en el que dichos medios para situar espacialmente dicha cámara en relación a dicho iluminador permiten que dicho iluminador de campo sea alineado con cualquier ubicación espacial particular dentro de dicha cámara.
11. Un aparato según la reivindicación 10, en el que se usa una dirección de coordenadas para describir ubicaciones espaciales particulares dentro de dicha cámara (20).
12. Un aparato según la reivindicación 11, en el que dicha información recuperada por dicho lector (38) de etiquetas se refiere a rasgos dentro de la cámara (20).
- 40 13. Un aparato según la reivindicación 1, en el que dicho iluminador (40) de campo comprende:
 - una fuente (44) de luz que produce luz dentro de un intervalo de longitudes de onda lo suficientemente amplio para ser útil para una pluralidad de ensayos en la muestra de fluido biológico; y
 - 45 un montaje de óptica (46) de objetivo, en el que dicha óptica dirige la luz que emana de dicho campo de muestra o es transmitida a través de dicho campo de muestra hacia una imagen de área conocida o averiguable de luz en dicho disector (42) de imágenes.
14. Un aparato según la reivindicación 13, en el que dicho montaje de la óptica (46) de objetivo comprende:

- una lente (52) de objetivo;
- un mecanismo (50) de enfoque, dicho mecanismo para ajustar de manera selectiva la posición de dicha lente (52) de objetivo en relación a la cámara (20); y
- un filtro (58, 66) de la luz para bloquear o dejar pasar ciertas longitudes de onda de dicha luz;
- 5 en donde otras longitudes de onda de dicha luz que emanan de dicha fuente de luz pasan a través de dicha lente (52) de objetivo y dicho filtro (58, 66) de la luz y hacia dicho disector (42) de imágenes, o son bloqueadas, respectivamente.
15. Un aparato según la reivindicación 14, en el que dicho iluminador (40) de campo dirige la luz hacia dicha muestra dentro de la cámara (20) y recoge la luz que fluoresce de dicha muestra.
- 10 16. Un aparato según la reivindicación 15, en el que dicho filtro de la luz comprende:
- una pluralidad de filtros (58) de excitación de la fuente de luz;
- una pluralidad de filtros (66) de emisión de la muestra;
- 15 en el que dichos filtros de excitación de la fuente de luz bloquean longitudes de onda seleccionadas de dicha luz que emana de dicha fuente (44) de luz y dichos filtros de emisión de la muestra bloquean longitudes de onda seleccionadas de dicha luz que fluoresce de dicha muestra.
17. Un aparato según la reivindicación 16, en el que dichos filtros (58) de excitación de la fuente de luz están montados en una primera rueda (68) y dichos filtros (66) de emisión de la muestra están montados en una segunda rueda (70) y ambos de dichos filtros son giratorios dentro y fuera de un camino de dicha luz; y
- 20 en el que dicho iluminador (40) de campo comprende además medios para sincronizar dicha primera rueda y dicha segunda rueda de tal modo que todas las combinaciones deseables de dichos filtros de excitación de la fuente de luz y dichos filtros de emisión de la muestra se pueden usar durante dichos ensayos.
18. Un aparato según la reivindicación 16, en el que dicho iluminador (40) de campo comprende además:
- un prisma (60) desviador de la luz; y
- 25 un detector (62) de referencia que tiene medios para cuantificar un nivel de energía de dicha luz que emana de dicha fuente (44) de luz, en donde dicho nivel de energía cuantificado se usa de manera selectiva en la evaluación de dicha luz que fluoresce de dicha muestra.
19. Un aparato según la reivindicación 14, en el que dicho iluminador (40) de campo dirige la luz hacia dicha cámara (20) que contiene dicha muestra y recoge la luz producida por transmitancia que pasa a través de dicha muestra.
20. Un aparato según la reivindicación 19, en el que dicho filtro de luz comprende:
- 30 una pluralidad de filtros (58) de excitación de la fuente de luz;
- una pluralidad de filtros (66) de emisión de la muestra;
- en el que dichos filtros de excitación de la fuente de luz bloquean longitudes de onda de dicha luz que emana de dicha fuente (44) de luz y dichos filtros de emisión de la muestra bloquean longitudes de onda de dicha luz que emana de dicha muestra.
- 35 21. Un aparato según la reivindicación 20, en el que dichos filtros (58) de excitación de la fuente de luz están montados en una primera rueda (68) y dichos filtros (66) de emisión de la muestra están montados en una segunda rueda (70) y ambas de dichas ruedas permiten la rotación de dichos filtros dentro y fuera de un camino de dicha luz; y
- 40 en el que dicho iluminador (40) de campo comprende además medios para sincronizar dicha primera rueda y dicha segunda rueda de tal modo que todas las combinaciones deseables de dichos filtros de excitación de la fuente de luz y dichos filtros de emisión de la muestra se pueden usar durante dichos ensayos.
22. Un aparato según la reivindicación 21, en el que dicho iluminador (40) de campo comprende además:
- un prisma (60) desviador de la luz; y
- 45 un detector (62) de referencia que tiene medios para cuantificar un nivel de energía de dicha luz que emana de dicha fuente (44) de luz, en donde dicho nivel de energía cuantificado se usa de manera selectiva en la evaluación de dicha luz que emana de dicha muestra por fluorescencia.
23. Un aparato según la reivindicación 2, en el que dichos medios para determinar uno de dicho grosor de plano

transversal o dicho volumen de dicho campo de muestra incluyen dichos medios de recuperación de información que recuperan información de una etiqueta (28) concerniente a la cámara (20), información que incluye uno de dicho grosor de plano transversal de dicho campo de muestra o dicho volumen de dicho campo de muestra.

24. Un método para ensayar una muestra de fluido biológico, que comprende las etapas de:

- 5 proporcionar un recipiente (18) para contener la muestra, teniendo dicho recipiente una cámara (20) con una primera pared (30) y una segunda pared (32) transparente, y una etiqueta (28) unida a dicho recipiente, conteniendo dicha etiqueta información que se usa en la realización de uno o más ensayos;
- 10 proporcionar un módulo (14) lector que recibe dicho recipiente, incluyendo dicho módulo lector un lector (38) de etiquetas para leer dicha etiqueta y un iluminador (40) de campo para iluminar de manera selectiva un campo de la muestra, teniendo dicho campo un área conocida o averiguable;
- depositar dicha muestra dentro de dicha cámara, en donde dicha muestra reside de manera estable en dicha cámara después de eso;
- leer dicha etiqueta con dicho lector de etiquetas, comunicando de este modo a dicho módulo lector desde dicho recipiente dicha información, que se usa en la realización de dichos uno o más ensayos;
- 15 producir una imagen de manera selectiva de una pluralidad de dichos campos de muestra usando dicho iluminador de campo; y
- determinar uno de un grosor (78) de plano transversal o un volumen de cada uno de dichos campos de muestra.

25. Un método según la reivindicación 24, que comprende además las etapas de:

- 20 proporcionar un posicionador (86) dentro de dicho módulo (14) lector, siendo dicho posicionador operable para cambiar de manera selectiva la posición de uno de dicha cámara (20) o dicho iluminador (40) de campo en relación al otro de dicha cámara o dicho iluminador de campo;
- posicionar de manera selectiva dicha cámara en relación a dicho iluminador de campo.

26. Un método según la reivindicación 25, que comprende además las etapas de:

- 25 proporcionar medios para ubicar espacialmente dicha cámara (20) en relación a dicho iluminador (40) de campo;
- posicionar dicho iluminador de campo en relación a dicha cámara usando dichos medios ubicadores espacialmente.

27. Un método según la reivindicación 26, que proporciona además la etapa de:

- 30 proporcionar un grosor de plano transversal o un volumen de dicho campo de muestra y una ubicación espacial de dicho campo de muestra como parte de dicha información usada en la realización de dichos uno o más ensayos.

28. Un método según la reivindicación 26, que comprende además las etapas de:

- 35 proporcionar una concentración conocida de un colorante sensible distribuido uniformemente dentro de la muestra, teniendo dicho colorante sensible una relación señal a concentración conocida;
- proporcionar dicha concentración, dicha relación señal a concentración, y una ubicación espacial de dicho campo de muestra como parte de dicha información usada en la realización de dichos uno o más ensayos;
- posicionar dicho iluminador (40) de campo para alinearlo con dicho campo de muestra en dicha ubicación espacial;
- producir una imagen de dicho campo de muestra;
- 40 determinar un volumen de dicho campo de muestra usando dicha información, que incluye dicha imagen de dicho campo de muestra, dicha concentración y dicha relación señal a concentración.

29. Un método según la reivindicación 28, que comprende además las etapas de:

- 45 proporcionar un reservorio (22) unido a dicho recipiente (18) y una válvula (26) operable de manera selectiva, dispuesta funcionalmente entre dicho reservorio y dicha cámara (20);
- depositar dicha muestra dentro de dicho reservorio antes de dichos uno o más ensayos;

iniciar un periodo de tiempo de ensayo accionando de manera selectiva dicha válvula para dejar que dicha muestra se transfiera de dicho reservorio a dicha cámara.

30. Un método según la reivindicación 26, en el que dicha etapa de determinar uno de un grosor (78) de plano transversal o un volumen incluye:

5 proporcionar un colorante sensible distribuido uniformemente dentro de la muestra, teniendo dicho colorante sensible una relación señal a concentración;

proporcionar, como parte de dicha información usada en la realización de los uno o más ensayos, una primera ubicación espacial para ubicar un primer campo de muestra, una segunda ubicación espacial para ubicar un segundo campo de muestra, en donde dichos primer y segundo campos tienen volúmenes iguales, y una característica geométrica que tiene un volumen conocido, estando dicha característica posicionada dentro de uno de dichos primer o segundo campos de muestra;

10 posicionar dicho iluminador (40) de campo para alinearlo con dicha primera ubicación espacial;

producir una imagen de dicho primer campo de muestra;

posicionar dicho iluminador de campo para alinearlo con dicha segunda ubicación espacial;

15 producir una imagen de dicho segundo campo de muestra;

determinar dicho volumen de uno de dichos primer o segundo campo de muestras usando dichas imágenes de dichos primer y segundo campos de muestra, dicho volumen conocido de dicha característica geométrica, y dicha relación señal a concentración.

31. Un método según la reivindicación 26, en el que dicha etapa de determinar uno de un grosor (78) de plano transversal o un volumen incluye:

proporcionar un colorante sensible distribuido uniformemente dentro de la muestra, teniendo dicho colorante sensible una relación señal a concentración;

proporcionar, como parte de dicha información usada en la realización de los uno o más ensayos, una primera ubicación espacial para ubicar un primer campo de muestra, una segunda ubicación espacial para ubicar un segundo campo de muestra, en el que dichos primer y segundo campos tienen volúmenes iguales, y una característica geométrica posicionada dentro de uno de dichos primer o segundo campos de muestra, teniendo dicha característica una altura conocida;

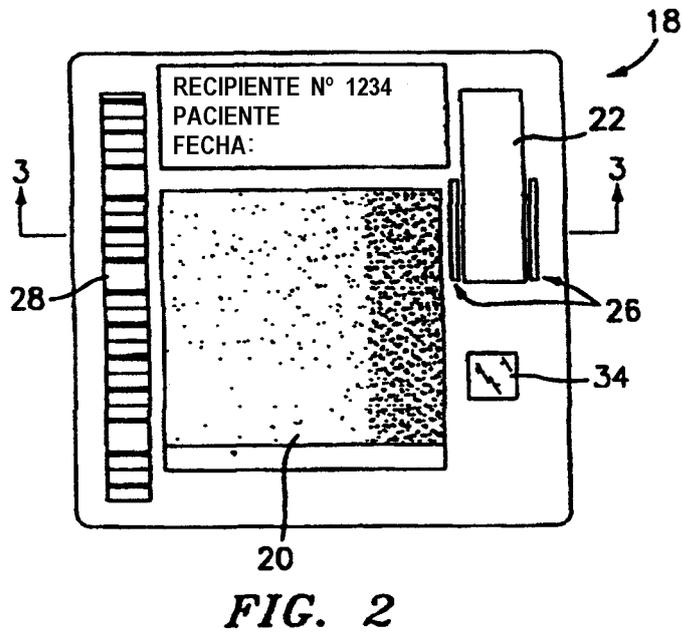
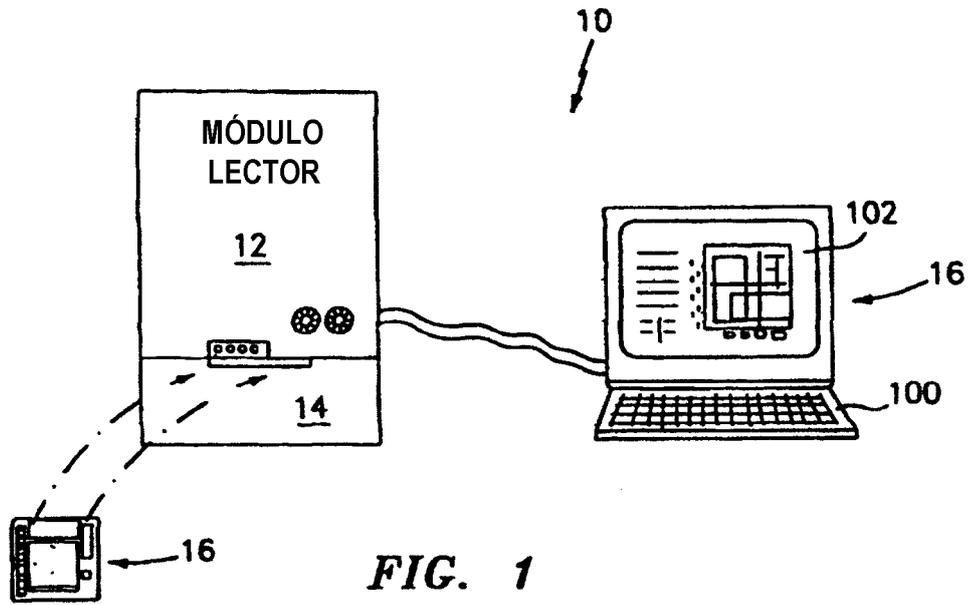
25 posicionar dicho iluminador (40) de campo para alinearlo con dicha primera ubicación espacial;

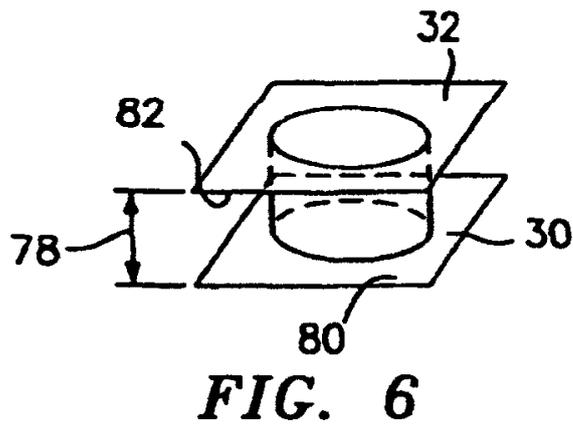
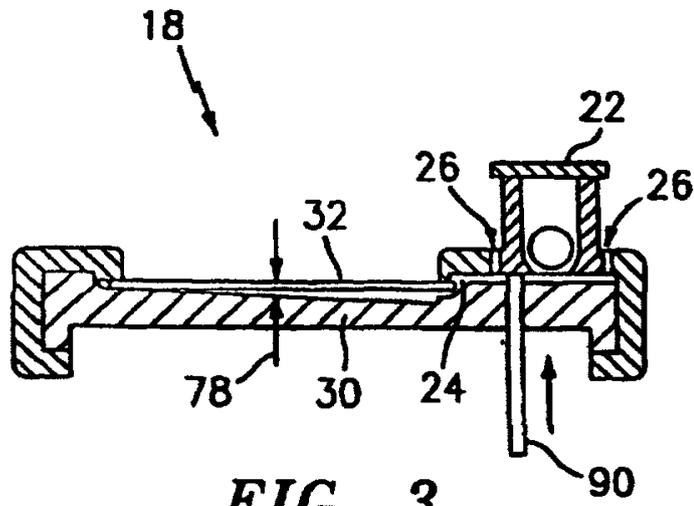
producir una imagen de dicho primer campo de muestra;

30 posicionar dicho iluminador de campo para alinearlo con dicha segunda ubicación espacial;

producir una imagen de dicho segundo campo de muestra;

determinar dicho volumen de uno de dichos primer o segundo campo de muestras usando dichas imágenes de dichos primer y segundo campos de muestra, dicha altura conocida de dicha característica geométrica, y dicha relación señal a concentración.





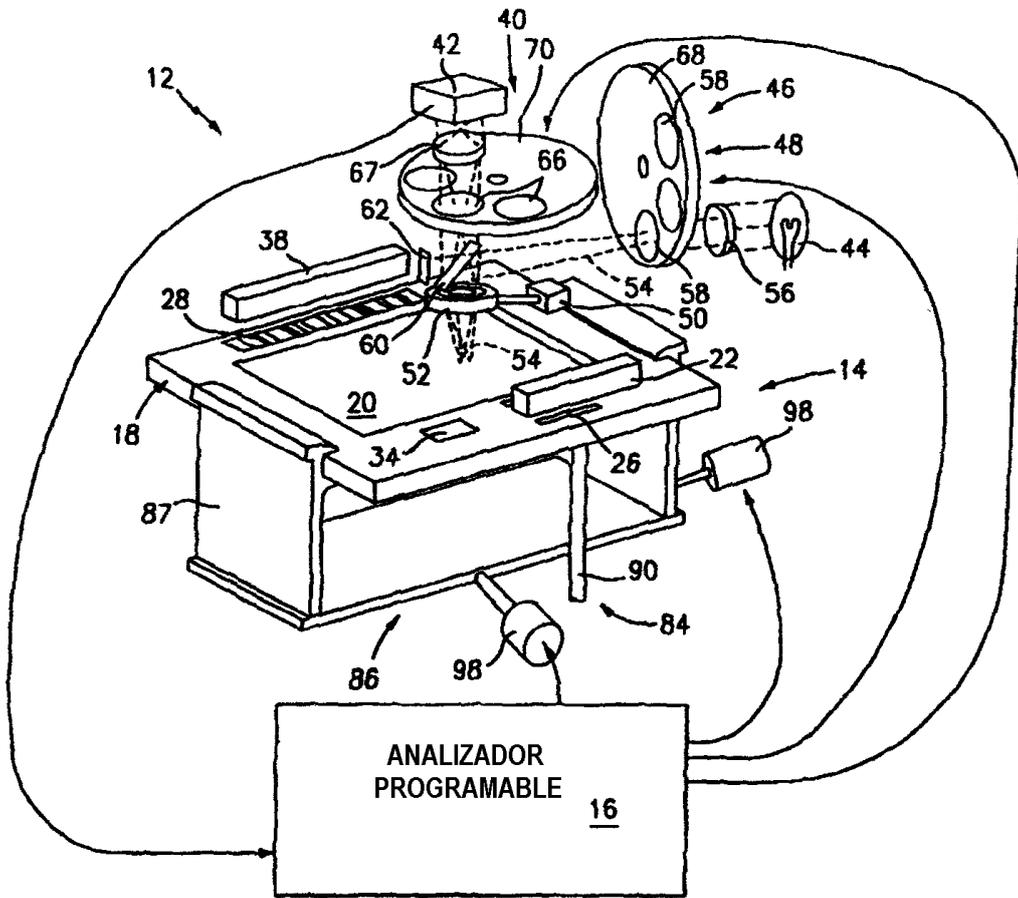


FIG. 4

