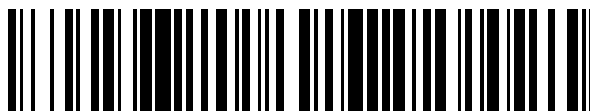


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 563 245**

51 Int. Cl.:

A61B 5/145 (2006.01)
G01N 35/00 (2006.01)
A61B 5/155 (2006.01)
A61B 5/15 (2006.01)
A61B 5/153 (2006.01)
A61B 5/157 (2006.01)
G01N 33/86 (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)
G01N 35/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.07.2011 E 11869064 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2015 EP 2692290**

54 Título: **Analizador automatizado de plaquetas y método analítico del mismo**

30 Prioridad:

01.07.2011 CN 201110184076

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

11.03.2016

73 Titular/es:

**SINNOWA MEDICAL SCIENCE & TECHNOLOGY
CO., LTD (100.0%)
No. 7 Baoshan Rd., Qilin Industrial Park,
Jiangning, Nanjing
Jiangsu 211135, CN**

72 Inventor/es:

**XU, XIN;
DONG, ZIQUAN;
CAO, NING;
LI, XIANG;
YU, FAN y
YANG, WEIJIE**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 563 245 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

Analizador automatizado de plaquetas y método analítico del mismo.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un equipo médico y a sus métodos analíticos, más en particular a un analizador automatizado de la función plaquetaria y a sus métodos analíticos, que pueden utilizarse para detectar de manera rápida y consecutiva los cambios de la agregación plaquetaria sanguínea.

10

Antecedentes de invención

Las plaquetas, un tipo de constituyente sanguíneo particulado, es un factor importante para la hemostasia y la trombosis sanguíneas. La determinación conveniente y eficaz del número, el volumen, la tasa de agregación y otros parámetros de las plaquetas, desempeña un papel significativo en la orientación de diagnóstico, profilaxis y tratamiento de la trombosis y enfermedades relacionadas. Con el desarrollo de la tecnología y el estudio en profundidad de las plaquetas, se han desarrollado en varios países algunos instrumentos de pruebas funcionales o de categoría de plaquetas únicos, tales como: analizador de la agregación plaquetaria existente (una única función para medir los parámetros de agregación plaquetaria, estando basados principalmente los instrumentos analíticos existentes en el principio del método turbidimétrico o método directo para medir la resistencia de electrodo), analizadores de hematología o analizadores de células sanguíneas (un equipo de este tipo sólo puede determinar el número, el volumen, etc. de plaquetas, y no puede medir las mismas plaquetas sanguíneas de manera repetida, consecutiva y automática. Es decir, no pueden determinar la agregación plaquetaria automáticamente). Por tanto, hasta el momento no existe ningún instrumento analítico para determinar la tasa de agregación plaquetaria basándose en el principio de medir de manera automática y consecutiva los cambios en las plaquetas sanguíneas en muestras de sangre tratadas mediante un agonista plaquetario. No hay ningún instrumento para medir el número de plaquetas, obtener el volumen automáticamente y determinar adicionalmente la tasa de agregación plaquetaria y otros múltiples parámetros simultáneamente.

15

20

25

30

35

El principio de detección tradicional utilizado mediante el instrumento de agregación plaquetaria es el método de turbidimetría óptica o método de resistencia eléctrica. Es más común el detector de agregación plaquetaria basado en el método de turbidimetría óptica. Sin embargo, este detector necesita una mayor cantidad de sangre (2 ml de sangre completa habitualmente). Antes del examen, todavía es un requisito previo separar el plasma, que es una operación complicada y requiere mucho tiempo. El analizador de agregación plaquetaria basado en el método de resistencia logra obtener la tasa de agregación plaquetaria mediante la medición de cambios en la agregación plaquetaria en el electrodo, lo que también necesita más de 2 ml de sangre completa. Además, ambos métodos descritos anteriormente rara vez son de utilización clínica debido a una escasa reproducibilidad.

40

Sumario de la invención

El objeto de la presente invención es resolver los problemas técnicos de la técnica anterior proporcionando un analizador automatizado de la función plaquetaria y sus métodos analíticos.

45

Para resolver los problemas técnicos mencionados anteriormente, la presente invención da a conocer un analizador automatizado de la función plaquetaria que incluye un recipiente de toma de muestras, un recipiente de preparación, un recipiente de análisis, una aguja de toma de muestras, una jeringa de muestras de sangre, una jeringa de agonista plaquetario, una jeringa de disolución de análisis y dispositivos de mezclado de sangre.

50

El recipiente de toma de muestras se utiliza para almacenar muestras de sangre y como depósito de reacción de agregación plaquetaria. Generalmente, el volumen del recipiente de toma de muestras es de 1-5 ml y el volumen de muestra añadido por la aguja de toma de muestras o jeringa de muestras de sangre es de 100-1000 µl cada vez.

55

El recipiente de preparación se utiliza para la primera dilución de muestras de sangre. Generalmente, el volumen del recipiente de preparación es de 5-20 ml y el volumen de muestra añadido por la aguja de toma de muestras o la jeringa de muestras de sangre es de 10-50 µl cada vez. El volumen de la primera dilución es de 50 a 300 veces el volumen de muestra dispensado.

60

El recipiente de análisis se utiliza para la segunda dilución de sangre y la detección del número de plaquetas. Generalmente, el volumen del recipiente de análisis es de 5-20 ml. El volumen de la segunda dilución es de 50 a 300 veces el volumen de muestra dispensado. Tras la segunda dilución, la concentración final de plaquetas es de 1/90000-1/10000 de las muestras de sangre originales.

65

Los dispositivos de mezclado de sangre se utilizan para mezclar las muestras de sangre en el recipiente de toma de muestras, el recipiente de preparación y el recipiente de análisis.

Dicha jeringa de agonista plaquetario se conecta al depósito de agonista plaquetario para inyectar agonista

plaquetario al interior del recipiente de toma de muestras.

La jeringa de disolución de análisis se conecta al depósito de disolución de análisis para inyectar la disolución de análisis al recipiente de preparación o al recipiente de análisis.

5 La aguja de toma de muestras, la jeringa de muestras de sangre, la jeringa de agonista plaquetario y la jeringa de disolución de análisis se accionan por motores.

10 La aguja de toma de muestras se conecta a la jeringa de muestras de sangre y a la jeringa de disolución de análisis a través de conductos y válvulas.

15 Una vez que la aguja de toma de muestras se conecta a la jeringa de muestras de sangre, se añade la muestra de sangre en secuencia al recipiente de toma de muestras, se absorben las muestras de sangre del recipiente de toma de muestras y se transfieren al recipiente de preparación, se absorben las muestras de sangre diluidas del recipiente de preparación y se transfieren al recipiente de análisis.

Una vez que dicha jeringa de disolución de análisis se conecta a dicha aguja de toma de muestras, se limpiará la aguja de toma de muestras.

20 Los dispositivos de mezclado según la presente invención son bombas de aire, que se conectan de manera independiente al recipiente de toma de muestras, al recipiente de preparación y al recipiente de análisis a través de conductos y válvulas.

25 El diámetro interno de conducto, que se conecta al recipiente de toma de muestras, presenta 0,2 mm-2 mm, y su velocidad de flujo de aire de entrada es de 1-20 ml/min.

Las bombas de aire preferidas según la presente invención son bombas rotatorias o jeringas de mezclado.

30 La presente invención tal como se describe incluye un limpiador que se utiliza para limpiar la superficie exterior de la aguja de toma de muestras. El limpiador limpia automáticamente la sangre residual de la superficie de la aguja de toma de muestras cada vez tras el análisis para impedir que la sangre residual de la superficie de la aguja de toma de muestras dañe el análisis de datos.

35 Preferiblemente, la presente invención incluye una bomba de líquido de desecho, que se conecta al recipiente de toma de muestras, al recipiente de preparación, al recipiente de análisis y al limpiador. La bomba de líquido de desecho limpia cada recipiente y vacía el objeto residual cuando se completa el análisis correspondiente.

La presente invención también da a conocer un método de análisis de plaquetas que incluye las etapas siguientes:

40 Etapa 1: conectar la aguja de toma de muestras y la jeringa de muestras de sangre, absorber la muestra de sangre y transferirla al recipiente de toma de muestras y mezclarla.

45 Etapa 2: mediante la aguja de toma de muestras y la jeringa de muestras de sangre absorber cuantitativamente la muestra de sangre del recipiente de toma de muestras, y entonces transferirla al recipiente de preparación.

Etapa 3: transferir la disolución de análisis al recipiente de preparación, obtener cuantitativamente la primera dilución mediante la jeringa de disolución de análisis y mezclar.

50 Etapa 4: conectar la aguja de toma de muestras a la jeringa de muestras de sangre, absorber cuantitativamente la muestra de sangre del recipiente de preparación y transferirla al recipiente de análisis.

55 Etapa 5: transferir la disolución de análisis al recipiente de análisis mediante la jeringa de disolución de análisis, obtener cuantitativamente una segunda dilución y mezclar.

Etapa 6: contar el número de plaquetas originales de la muestra de sangre en el recipiente de análisis.

60 Etapa 7: dispensar el agonista plaquetario al interior del recipiente de toma de muestras mediante la jeringa de agonista plaquetario y mezclar; la razón de volumen entre la muestra de sangre y el agonista plaquetario es de 1:1-20:1. Generalmente, el agonista plaquetario es la disolución acuosa de difosfato de adenosina o ácido araquidónico o epinefrina.

65 Etapa 8: repetir de la etapa 2 a la etapa 5 con un determinado intervalo de tiempo y contar el número de plaquetas de la muestra de sangre en cada punto de tiempo tras dispensar el agonista plaquetario. El intervalo de tiempo es de 30-300 s.

Etapa 9: comparar el número de plaquetas tras dispensar agonista plaquetario en cada punto de tiempo con el de plaquetas originales para lograr la tasa de agregación plaquetaria.

5 Considerando la precisión del análisis y el volumen del equipo de análisis, la presente invención adopta un método de dilución dos veces utilizando el recipiente de preparación y el recipiente de análisis para completar la dilución. En comparación con el método tradicional de dilución una vez, esta dilución presenta mejor precisión de detección.

10 En la presente invención, preferiblemente se adopta el método de aire de soplado para mezclar la muestra de sangre. El equipo de análisis de plaquetas tradicional sólo puede analizar el número de plaquetas de manera estática, y no puede analizar consecutivamente la capacidad de agregación plaquetaria en un momento determinado. Puesto que las plaquetas no serán homogéneas tras un determinado periodo de tiempo, a través de un gran número de estudios comparativos el solicitante de la presente invención descubrió que los resultados del análisis se obtienen de manera más precisa mediante el método de aire de soplado. Sin duda, el método de agitación mecánica, utilizando una aguja de toma de muestras u otro método de succión con pajita, también puede
15 mezclar las muestras de sangre que van a analizarse.

20 En la presente invención, la disolución de análisis no debe dañar la agregación plaquetaria en las muestras de sangre, reaccionar con ningún componente de la sangre ni contener ninguna partícula de impurezas. Generalmente, puede aceptarse solución salina fisiológica desionizada o disolución de análisis disponible en el mercado para un analizador de células sanguíneas. La disolución de análisis preferida es de presión osmótica similar a la presión osmótica sanguínea.

25 En la presente invención, la información de plaquetas obtenida tras la primera detección es la información de estado original. Después, las diferencias de detección debidas a la agregación plaquetaria en las muestras de sangre reflejarán el número de plaquetas individuales y los cambios de volumen en las muestras de sangre tras dispensarse el agonista plaquetario, y entonces se obtendrán el número de plaquetas originales, el volumen y el cambio en la agregación plaquetaria tras dispensar el agonista plaquetario.

30 Efectos beneficiosos: la ventaja destacada de la presente invención reside en utilizar sangre completa directamente y terminar la detección de la tasa de agregación plaquetaria sin la separación de plasma. Además, la sangre requerida es menor (menos de 500 ul). Al poder obtenerse resultados de prueba de cada punto de tiempo en un momento determinado mediante la detección directa de cambios en el número de plaquetas antes y después de dispensar el agonista plaquetario y con la detección consecutiva, puede lograrse el resultado de detección en cada punto de tiempo de un periodo. El procedimiento de detección del instrumento está completamente automatizado,
35 por lo que la detección es conveniente, rápida y escasamente susceptible a factores humanos.

Breve descripción de los dibujos

40 La presente invención se describirá ahora adicionalmente haciendo referencia a los dibujos adjuntos que ilustran las realizaciones preferidas de la invención, a partir de las cuales resultarán evidentes sus ventajas descritas anteriormente y/u otras ventajas.

La figura 1 es un diagrama esquemático de la estructura de instrumento descrita en la presente invención;

45 la figura 2 es un análisis de correlación de la tasa de agregación plaquetaria máxima del instrumento descrito en la presente invención y un instrumento de turbidimetría.

Descripción detallada de las realizaciones

50 Tal como se muestra en la figura 1, la presente invención da a conocer un analizador automatizado de la función plaquetaria que comprende un recipiente de toma de muestras 1, un recipiente de preparación 2, un recipiente de análisis 3, una aguja 4 de toma de muestras, una jeringa de muestras de sangre 5, una jeringa de agonista plaquetario 6, una jeringa de disolución de análisis 7 y dispositivos de mezclado de sangre. El recipiente de toma de muestras se utiliza para almacenar muestras de sangre. El recipiente de preparación se utiliza para la primera dilución de las muestras de sangre. El recipiente de análisis se utiliza para la segunda dilución y la detección del número de plaquetas. Los dispositivos de mezclado de sangre se utilizan para mezclar las muestras de sangre en el recipiente de toma de muestras, el recipiente de preparación y el recipiente de análisis. La jeringa de agonista plaquetario conectada al depósito de almacenamiento de agonista plaquetario 10 se utiliza para inyectar agonista plaquetario al interior del recipiente de toma de muestras. La jeringa de disolución de análisis conectada al depósito de disolución de análisis 11 se utiliza para inyectar disolución de análisis al recipiente de preparación o al recipiente de análisis. La aguja de toma de muestras, la jeringa de muestras de sangre, la jeringa de agonista plaquetario y la jeringa de disolución de análisis las accionan motores. La aguja de toma de muestras se conecta a la jeringa de muestras de sangre y a la jeringa de disolución de análisis a través de conductos y válvulas. Una vez que la aguja de toma de muestras se conecta con la jeringa de muestras de sangre, se dispensan las muestras de sangre al recipiente de toma de muestras, se absorben las muestras de sangre del recipiente de toma de muestras y se transfieren al recipiente de preparación. La absorción de las muestras de sangre diluidas del recipiente de
65

preparación, y su transferencia al recipiente de análisis se llevan a cabo en secuencia. Una vez que la jeringa de disolución de análisis se conecta a la aguja de toma de muestras, se limpiará la aguja de toma de muestras.

5 Los dispositivos de mezclado son bombas de aire, que se conectan de manera independiente al recipiente de toma de muestras, al recipiente de preparación y al recipiente de análisis a través de conductos y válvulas.

El diámetro interno del conducto, que se conecta al recipiente de toma de muestras, es de 0,2 mm-2 mm, y la velocidad de flujo de aire de entrada es de 1-20 ml/min.

10 La presente invención incluye un limpiador 12, que se utiliza para limpiar la superficie exterior de la aguja de toma de muestras.

La presente invención incluye una bomba de líquido de desecho, que se conecta al recipiente de toma de muestras, al recipiente de preparación, al recipiente de análisis y al limpiador.

15 La presente invención también da a conocer un método de análisis de plaquetas que incluye las etapas siguientes:

Etapa 1: conectar la aguja de toma de muestras con la jeringa de muestras de sangre, absorber la muestra de sangre, transferirla al recipiente de toma de muestras y mezclarla.

20 Etapa 2: mediante la utilización de la jeringa de muestras de sangre y la aguja de toma de muestras absorber cuantitativamente la muestra de sangre del recipiente de toma de muestras, transferirla al recipiente de preparación.

25 Etapa 3: la jeringa de análisis dispensa disolución de análisis al interior del recipiente de preparación para obtener la primera dilución y la mezcla de la muestra de sangre.

Etapa 4: conectar la aguja de toma de muestras a la jeringa de muestras de sangre, absorber cuantitativamente la muestra de sangre del recipiente de preparación y transferirla al recipiente de análisis.

30 Etapa 5: obtener cuantitativamente una segunda dilución transfiriendo la disolución de análisis al recipiente de análisis a través de la jeringa de disolución de análisis y mezclar la muestra de sangre.

Etapa 6: contar el número de plaquetas originales de la muestra de sangre en el recipiente de análisis.

35 Etapa 7: dispensar agonista plaquetario al interior del recipiente de toma de muestras mediante la jeringa de agonista plaquetario y mezclar la muestra de sangre.

Etapa 8: repetir de la etapa 2 a la etapa 5 con un determinado intervalo y contar el número de plaquetas en la muestra de sangre en cada punto de tiempo tras añadir agonista plaquetario.

40 Etapa 9: comparar el número de plaquetas tras dispensar agonista plaquetario en cada punto de tiempo con el de plaquetas originales para lograr la tasa de agregación plaquetaria.

45 Preferiblemente, la presente invención adopta el método de aire de soplado para mezclar la muestra de sangre.

Ejemplo 1

50 Tal como se muestra específicamente en la figura 1, el analizador automatizado de la función plaquetaria descrito en este ejemplo incluye un recipiente de toma de muestras 1. El recipiente de toma de muestras se conecta al depósito de almacenamiento de agonista plaquetario 10 mediante el conducto de agonista plaquetario I y la válvula V16. Al mismo tiempo, la válvula V16 se conecta con la jeringa de agonista plaquetario 6. La parte inferior de la cubeta de toma de muestras se conecta a la aguja de mezclado a través de la válvula V4 9 y la válvula V8. La válvula V10 está entre la válvula V4 y la aguja de mezclado 9 y también se conecta al aire exterior.

55 Un recipiente de preparación 2 se conecta con la válvula V15 mediante el conducto de disolución de análisis II. La válvula V15 se conecta a la válvula 14, a la válvula 12, a la válvula 13 en secuencia, finalmente a un depósito de almacenamiento de disolución de análisis 11. La parte inferior del recipiente de preparación se conecta a la bomba rotatoria 8 y a la válvula V8 a través de la válvula V2. La válvula V7 está entre la bomba rotatoria 8 y la válvula V2.

60 El recipiente de análisis 3 es una combinación de un conjunto de equipo, pudiendo utilizarse el analizador de hematología KX-21 producido por Sysmex en Japón. Ciertamente también puede utilizarse una estructura específica en la siguiente descripción. Ambos presentan el mismo principio. En lo que se refiere a esta realización, dicho recipiente de análisis incluye principalmente el cuerpo 31 de recipiente, el dispositivo 32 cuantitativo y el recipiente de vacío 33. El conducto III en el cuerpo 31 de recipiente para añadir disolución de análisis se conecta a la válvula V15. La parte inferior del cuerpo 31 de recipiente se conecta a la bomba rotatoria 8 y a la válvula V8 a través de la

ES 2 563 245 T3

válvula V1. La válvula V6 está entre la válvula V1 y la bomba rotatoria 8. En la parte inferior de la pared lateral del cuerpo 31 de recipiente está el orificio 311 de análisis. El orificio 311 de análisis se conecta a un dispositivo 32 cuantitativo y a un depósito de almacenamiento de disolución de limpieza 14 mediante conductos. La válvula V15 y la válvula de derivación V9 que se conecta al aire están entre un orificio 311 de análisis y un dispositivo 32 cuantitativo. El dispositivo 32 cuantitativo se conecta a la bomba rotatoria 8 y la cubeta 33 de vacío mediante la válvula V3. La cubeta 33 de vacío se conecta con la válvula V8 mediante conductos. La válvula V17 está entre el orificio 311 de análisis y el depósito de almacenamiento de disolución de limpieza 14. La disolución de limpieza en el depósito de almacenamiento de disolución de limpieza 14 se utiliza para limpiar el dispositivo 32 cuantitativo y la cubeta 33 de vacío.

La válvula V8 se conecta a la bomba de líquido de desecho 13 y a la válvula V11 simultáneamente. La válvula V11 se conecta al limpiador 12. El limpiador 12 se conecta al depósito de almacenamiento de disolución de análisis 11 mediante la válvula V12 y la válvula V13. La válvula V13 se conecta al depósito de almacenamiento de disolución de análisis 11 mediante conductos.

La aguja de toma de muestras se conecta a la válvula 14 y a la válvula 12.

La jeringa de muestras de sangre se conecta a la válvula 14.

En esta realización sin descripción especial, los componentes se conectan directamente mediante conductos.

Procedimiento para la utilización de este ejemplo:

Etapa 1: Una vez que la aguja 4 de toma de muestras se conecta a la jeringa de muestras de sangre 5 mediante el control de la válvula V14, se extraen 200-500 ul de sangre completa como la muestra de sangre del tubo de ensayo equipado con citrato de sodio (no mostrado en la figura). Cuando la aguja de toma de muestras se introduce en el recipiente de toma de muestras 1 mediante el control de la válvula V14, se inyecta la muestra de sangre al interior del recipiente de toma de muestras. La aguja de mezclado 9 inyecta aire a la parte inferior del recipiente de toma de muestras 1 mediante el control de la válvula 10 y la válvula 4. El aire mezcla la muestra de sangre desde la parte inferior hacia la parte superior. Durante este tiempo, la aguja 4 de toma de muestras se mueve hacia el limpiador 12, y mediante el control de la válvula V12 y la válvula V13. El limpiador limpia la superficie exterior de la aguja de toma de muestras con disolución de limpieza para eliminar la sangre residual de la superficie exterior, y mediante el control de la jeringa de muestras de sangre 5 limpia la superficie interior de la aguja de toma de muestras con disolución de análisis para eliminar la sangre residual de la superficie interior.

Etapa 2: Una vez que la aguja 4 de toma de muestras se conecta a la jeringa de muestras de sangre 5 mediante el control de la válvula V14, se absorben 10-30 ul de muestra de sangre mezclada del recipiente de toma de muestras y se transfieren al interior del recipiente de preparación 2.

Etapa 3: A través de la jeringa de disolución de análisis, la aguja de toma de muestras y el conducto de disolución de análisis II, se transfieren 3,25 ml de disolución de análisis al recipiente de preparación para la primera dilución mediante el control de la válvula V13, la válvula V12, la válvula V14 y la válvula V15. La disolución de análisis puede transferirse mediante la jeringa de disolución de análisis, la aguja de toma de muestras y el conducto de disolución de análisis III. Este ejemplo adopta ambos medios simultáneamente. La bomba rotatoria 8 inyecta aire a la parte inferior del recipiente de preparación para mezclar la muestra de primera dilución mediante el control de la válvula V7 y la válvula V2. Durante este tiempo, la aguja 4 de toma de muestras se mueve hacia el limpiador 12, el limpiador limpia la superficie exterior de la aguja de toma de muestras con disolución de limpieza mediante el control de la válvula V12 y la válvula V13 para eliminar la sangre residual de la superficie exterior y limpia la superficie interior de la aguja de toma de muestras con disolución de análisis mediante el control de la jeringa de muestras de sangre 5 para eliminar la sangre residual de la superficie interior.

Etapa 4: Una vez que la aguja 4 de toma de muestras se conecta a la jeringa de muestras de sangre 5 mediante el control de la válvula V14, se absorben 10-30 ul de la muestra de sangre de primera dilución del recipiente de preparación y se transfieren al recipiente de análisis 3.

Etapa 5: Mediante el control de la válvula V13, la válvula V12, la válvula V14 y la válvula V15, se añaden 3,25 ml de disolución de análisis a través de la jeringa de disolución de análisis, la aguja de toma de muestras y el conducto de disolución de análisis III al interior del recipiente de análisis para la segunda dilución. La disolución de análisis puede transferirse mediante la jeringa de disolución de análisis, la aguja de toma de muestras o el conducto de disolución de análisis III. Este ejemplo adopta ambos medios simultáneamente. La bomba rotatoria 8 inyecta aire a la parte inferior del recipiente de preparación para mezclar la muestra de segunda dilución mediante el control de la válvula V6 y la

válvula V1. La bomba de líquido de desecho 13 aplica vacío al recipiente de vacío 33 para formar una presión negativa mediante la válvula 8 y el recipiente de vacío absorbe la muestra de sangre de la dilución secundaria en el recipiente de análisis del orificio 311 de análisis mediante la válvula V3 y la válvula V5. El dispositivo 32 cuantitativo garantiza que se absorbe la misma cantidad de líquido cada vez. Una vez terminada la detección mediante el control de apertura y el cierre de la válvula V9, se libera la presión negativa en el conducto y la canalización dentro presenta la misma presión que el entorno.

Etapa 6: Se determina el número de plaquetas originales de la muestra de sangre en el recipiente de análisis.

Al final de las pruebas mediante el control de la válvula V13, la válvula V12, la válvula V14, la válvula V15, la jeringa de disolución de análisis 7 añade 4 ml de disolución de análisis al recipiente de preparación 2 y al recipiente de análisis 1, respectivamente, que se empapa para la siguiente prueba. La bomba de líquido de desecho 13 vacía el recipiente de preparación 2 mediante el control de la válvula V8 y la válvula V2 y vacía el recipiente de análisis 3 mediante el control de la válvula V8 y la válvula V1 antes de la siguiente prueba.

Etapa 7: La jeringa de agonista plaquetario 6, el depósito de almacenamiento de agonista plaquetario 10 y el conducto de agonista plaquetario I se conectan mediante el control de la válvula V16, y se añaden 10-50 ul de agonista plaquetario al interior del recipiente de toma de muestras 1. Mediante el control de la válvula V4 y la válvula V10 se conecta la jeringa de mezclado 9 al recipiente de toma de muestras 1 y se inyecta aire al interior de la parte inferior del recipiente de toma de muestras 1 para mezclar la muestra de sangre tras dispensarse el agonista plaquetario. El diámetro interno del conducto es 1 de mm y la velocidad de flujo de aire de entrada es de 1~20 ml/min.

Etapa 8: Se repite de la etapa 2 a la etapa 5 cada 60 s. Se introduce la muestra de sangre con el agonista plaquetario añadido en el recipiente de preparación y el recipiente de análisis en secuencia y se realiza la segunda dilución cuantitativa y se mezcla la muestra de sangre. Se determina el número de plaquetas sanguíneas en el recipiente de análisis en cada punto de tiempo tras dispensarse el agonista plaquetario.

Etapa 9: Se compara el número de plaquetas de la muestra de sangre en cada punto de tiempo tras dispensarse el agonista plaquetario con el número de las plaquetas originales para lograr la tasa de agregación plaquetaria.

Tras la determinación a través de la válvula V13, la válvula V12, la válvula V14 y la válvula V15, la jeringa de disolución de análisis añade 4 ml de disolución de análisis al interior del recipiente de preparación 2 y el recipiente de análisis 1, respectivamente 7, que se empapa para la siguiente prueba.

La jeringa de disolución de análisis 7 añade 2 ml de disolución de análisis al recipiente de toma de muestras 2 mediante la válvula V13, la válvula V12, la válvula V14 y el conducto de aguja de toma de muestras. Entonces, la bomba de líquido de desecho 13 vacía el recipiente de toma de muestras mediante el control de la válvula V8 y la válvula V4. La etapa se repite 3 veces con el fin de limpiar el recipiente de toma de muestras para el análisis de la siguiente muestra de sangre.

En esta realización, debe mantenerse la disolución de análisis a temperatura constante (una temperatura determinada de entre 18~39°C. Los cambios de temperatura de los reactivos no deben ser mayores de $\pm 1,5^\circ\text{C}$). Puede lograrse una temperatura constante calentando previamente las botellas de reactivo, dotando a los conductos en la posición inicial del recipiente de preparación y al recipiente de análisis de un dispositivo de calentamiento, o botellas de reactivo calentadas previamente y conductos calentados e instalaciones de temperatura constante acopladas combinados con la aguja de toma de muestras, el recipiente de toma de muestras, el recipiente de preparación y el recipiente de análisis para garantizar que la temperatura no es inferior a 18°C durante el análisis. Los cambios de temperatura de diversos aspectos no deben ser mayores de $\pm 1,5^\circ\text{C}$. Los medios para lograr el objetivo pueden ser añadir instalaciones de temperatura constante de todos los componentes relacionados o diseñar equipos de temperatura constante dentro del instrumento.

Ejemplo 2

Repetibilidad de la tasa de agregación plaquetaria medida mediante un analizador automatizado de la función plaquetaria y comparación de la tasa de agregación plaquetaria con el método turbidimétrico.

Comparación entre la repetibilidad de los resultados a partir de un analizador automatizado según la presente invención y los de un tipo de instrumento basado en el principio de método turbidimétrico (el método turbidimétrico se refiere a: Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. Nature (Lond.). 1962; 194: 927)

Utilizando una muestra de sangre completa con citrato sodio como anticoagulante, se determinan las tasas de agregación plaquetaria desde 0 hasta 5 min, respectivamente, mediante el analizador según la presente invención y el instrumento de método turbidimétrico. En la tabla que se expone a continuación se muestran 10 resultados repetidos.

El instrumento mencionado en esta realización es el mismo que el mencionado en el ejemplo 1. Las etapas de funcionamiento también son las mismas que las mencionadas en la realización 1. La disolución de análisis es solución salina fisiológica. El agonista plaquetario es disolución acuosa de difosfato de adenosina. La razón de primera dilución es de 240 veces y la razón de segunda dilución es de 240 veces.

Tabla 1:

Tasa de agregación plaquetaria desde 1 hasta 5 minutos determinada a partir del instrumento según la presente invención (modelo de instrumento: PL-11)

Número de prueba	Recuento de plaquetas originales ($\times 10^9/l$)	Tasa de agregación plaquetaria (%)				
		1 min	2 min	3 min	4 min	5 min
Prueba 1	145	35,0	43,0	54,6	62,3	61,4
Prueba 2	142	34,6	40,6	52,8	65,8	67,3
Prueba 3	140	36,3	45,5	56,2	60,1	65,5
Prueba 4	146	33,6	41,9	55,4	64,5	63,8
Prueba 5	142	38,9	47,0	57,6	65,4	64,7
Prueba 6	148	37,1	42,5	55,9	60,1	62,3
Prueba 7	141	34,3	44,6	55,4	62,5	60,8
Prueba 8	150	35,6	41,0	53,2	64,0	62,4
Prueba 9	144	33,2	46,2	57,6	59,9	63,9
Prueba 10	151	34,8	44,1	55,1	62,4	64,8
CV	-	4,8%	4,7%	2,9%	3,5%	3,1%

Según los 10 resultados de prueba, se calculan la DE y el valor promedio en cada valor de minutos, y después el coeficiente de variación (CV)

$$CV = DE/\text{valor promedio} \times 100\%$$

En 1-5 min, toda la repetibilidad de los 10 resultados de prueba de la tasa de agregación plaquetaria (representados en CV) es de no más del 5%, lo que sugiere que el instrumento posee una reproducibilidad fiable en la utilización para determinar tasa de agregación plaquetaria.

Tabla 2: Resultados de la tasa de agregación plaquetaria (un analizador de la agregación plaquetaria basado en el método turbidimétrico)

Número de prueba	Tasa de agregación plaquetaria (%)				
	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min
Prueba 1	24,5	29,0	36,6	50,3	50,4
Prueba 2	20,6	35,6	44,8	43,8	57,3
Prueba 3	20,3	40,5	38,2	48,1	49,5
Prueba 4	18,9	26,9	37,4	55,5	53,8
Prueba 5	26,5	32,0	49,6	46,8	46,7
Prueba 6	20,6	30,4	42,6	50,5	50,5
Prueba 7	27,1	35,1	34,3	45,6	55,9
Prueba 8	23,5	28,2	32,8	43,3	54,3
Prueba 9	22,6	27,8	37,8	36,9	57,1
Prueba 10	19,2	34,6	37,6	47,6	59,5
CV	13,1%	13,6%	12,9%	10,7%	7,6%

La repetibilidad de los 10 resultados de prueba de la tasa de agregación plaquetaria en 1-5 min (representados en CV) es de más del 10%, lo que sugiere que el instrumento basado en el método turbidimétrico posee una reproducibilidad menor que el instrumento según la presente invención.

2) Correlación de los resultados a partir del analizador automatizado según la presente invención y el instrumento de método turbidimétrico

Se determinan 40 muestras mediante el analizador automatizado según la presente invención y el instrumento turbidimétrico tradicional de manera simultánea. El máximo de la tasa de agregación plaquetaria a partir de las 40

muestras es el siguiente:

Tabla 3. Comparación de la tasa de agregación plaquetaria máxima a partir del analizador automatizado según la presente invención y el instrumento turbidimétrico

5

Muestra	Tasa de agregación plaquetaria máxima (%)	
	Analizador automatizado según la presente invención	Instrumento turbidimétrico tradicional
1	75,5	61,7
2	56,1	50,2
3	54,3	48,1
4	66,8	59,3
5	45,2	36,5
6	69,1	61,5
7	77,2	63,7
8	48,1	40,8
9	28,5	23,1
10	78,7	62,9
11	65,2	58,2
12	51,2	40,8
13	49,4	34,8
14	62,3	49,2
15	51,5	44,3
16	65,6	53,9
17	54,2	43,9
18	46,8	42,6
19	78,4	62,2
20	68,9	54,6
21	43,6	33,5
22	65,9	59,1
23	69,6	55,8
24	39,2	30,3
25	45,8	40,4
26	57,6	45,9
27	49,2	39,1
28	46,5	39,1
29	54,8	49,2
30	34,6	25,9
31	63,8	57,8
32	68,6	59,1
33	54,2	47,5
34	53,0	39,8
35	62,8	44,6
36	51,2	37,8
37	65,9	48,9
38	59,3	53,7
39	58,2	52,8
40	46,8	42,6
Tasa de agregación plaquetaria promedio	57,1±11,9	47,4±10,5

Se representó el diagrama de dispersión con los resultados de determinación del analizador automatizado como el eje x y los resultados de determinación del instrumento de método turbidimétrico como el eje y. Al mismo tiempo, se representa el análisis de regresión lineal de la figura 2. Según los resultados de la figura 2, los resultados de determinación a partir de los dos métodos presentan buena correlación. El coeficiente de correlación es $R^2=0,8965$, $R=0,9468$. Sin embargo, los resultados de determinación del analizador automatizado según la presente invención son superiores que los del instrumento turbidimétrico. Hay diferencias significativas entre ellos ($P<0,05$).

El analizador automatizado de la función plaquetaria según la presente invención puede determinar múltiples parámetros tales como el número de plaquetas, el volumen plaquetario medio, la distribución de volumen plaquetario, la tasa de agregación plaquetaria (incluyendo la tasa de agregación plaquetaria en diferentes tiempos, la tasa de agregación máxima y el tiempo de agregación máximo), etc., de manera automática y simultánea. Las pruebas son más eficaces y más completas. El analizador automatizado puede añadir agonista plaquetario de manera automática. Por tanto, el instrumento puede obtener los resultados de agregación plaquetaria en cada punto

de tiempo mediante la detección directa de cambios plaquetarios antes y después de añadir agonista plaquetario.

La presente invención proporciona una idea para diseñar un analizador automatizado de la función plaquetaria y sus métodos analíticos.

5 Aunque se han mostrado y descrito realizaciones preferidas de la invención, hay muchas formas de realizar este programa técnico. Resulta obvio para los expertos en la materia que pueden realizarse cambios y modificaciones sin apartarse de la invención en sus aspectos más amplios y, por tanto, el objetivo en las reivindicaciones adjuntas es cubrir todos esos cambios y modificaciones que se encuentran dentro del alcance de la invención tal como se define
10 en las reivindicaciones. Otras partes no expresadas en las realizaciones pueden lograrse con la tecnología existente.

REIVINDICACIONES

1. Analizador automatizado de la función plaquetaria que comprende:

5 un recipiente de toma de muestras, un recipiente de preparación, un recipiente de análisis, una aguja de toma de muestras, una jeringa de muestras de sangre, una jeringa de agonista plaquetario, una jeringa de disolución de análisis y un dispositivo de mezclado de sangre;

10 el recipiente de toma de muestras se utiliza para almacenar muestras de sangre;

el recipiente de preparación se utiliza para la primera dilución de muestras de sangre;

15 el recipiente de análisis se utiliza para la segunda dilución de muestras de sangre y la medición del número de plaquetas;

los dispositivos de mezclado de sangre se utilizan para mezclar las muestras de sangre en el recipiente de toma de muestras, el recipiente de preparación y el recipiente de análisis;

20 la jeringa de agonista plaquetario se conecta con el depósito de almacenamiento de agonista plaquetario para dispensar agonista plaquetario al interior del recipiente de toma de muestras;

la jeringa de disolución de análisis se conecta con el depósito de almacenamiento de disolución de análisis para dispensar la disolución de análisis al interior del recipiente de preparación o al interior del recipiente de análisis;

25 la aguja de toma de muestras, la jeringa de muestras de sangre, la jeringa de agonista plaquetario y la jeringa de disolución de análisis las accionan motores de manera independiente;

30 la aguja de toma de muestras se conecta a la jeringa de muestras de sangre y a la jeringa de disolución de análisis a través de conductos y válvulas, respectivamente;

cuando la jeringa de muestras de sangre se conecta a la aguja de toma de muestras, en secuencia para transferir las muestras de sangre al recipiente de toma de muestras, absorber la muestra de sangre parcial del recipiente de toma de muestras y transferirla al recipiente de preparación; absorber la muestra de sangre diluida del recipiente de preparación y transferirla al recipiente de análisis; y

35 una vez que la jeringa de disolución de análisis se conecta a la aguja de toma de muestras, se limpiará la aguja de toma de muestras.

40 2. Analizador automatizado de la función plaquetaria según la reivindicación 1, en el que los dispositivos de mezclado son bombas de aire, que se conectan de manera independiente al recipiente de toma de muestras, el recipiente de preparación y el recipiente de análisis a través de conductos y válvulas;

45 el conducto, que se conecta al recipiente de toma de muestras, presenta un diámetro interno de 0,2 mm–2 mm, y la velocidad de flujo de aire de entrada es de 1–20 ml/min.

3. Analizador automatizado de la función plaquetaria según la reivindicación 2, en el que las bombas de aire son bombas rotatorias o jeringas de mezclado.

50 4. Analizador automatizado de la función plaquetaria según las reivindicaciones 1 ó 2, que incluye un limpiador que se utiliza para limpiar la superficie exterior de la aguja de toma de muestras.

55 5. Analizador automatizado de la función plaquetaria según la reivindicación 4, que incluye una bomba de líquido de desecho y la bomba de líquido de desecho se conecta al recipiente de toma de muestras, al recipiente de preparación, al recipiente de análisis y al limpiador.

6. Método de análisis del analizador automatizado de la función plaquetaria según la reivindicación 1, que comprende las etapas siguientes:

60 etapa 1: conectar la aguja de toma de muestras con la jeringa de muestras de sangre, absorber la muestra de sangre y transferirla al recipiente de toma de muestras y mezclarla;

etapa 2: mediante la utilización de la jeringa de muestras de sangre y la aguja de toma de muestras absorber cuantitativamente la muestra de sangre del recipiente de toma de muestras y transferirla al recipiente de preparación;

65 etapa 3: la jeringa de análisis dispensa disolución de análisis al interior del recipiente de preparación para

ES 2 563 245 T3

- obtener la primera dilución y la mezcla de la muestra de sangre;
- 5 etapa 4: conectar la aguja de toma de muestras a la jeringa de muestras de sangre, absorber cuantitativamente la muestra de sangre del recipiente de preparación y transferirla al recipiente de análisis;
- etapa 5: obtener cuantitativamente una segunda dilución transfiriendo la disolución de análisis al recipiente de análisis a través de la jeringa de disolución de análisis y mezclar la muestra de sangre;
- 10 etapa 6: contar el número de plaquetas originales de la muestra de sangre en el recipiente de análisis;
- etapa 7: dispensar agonista plaquetario al interior del recipiente de toma de muestras mediante la jeringa de agonista plaquetario y mezclar la muestra de sangre;
- 15 etapa 8: repetir de la etapa 2 a la etapa 5 con un determinado intervalo, contar el número de plaquetas en la muestra de sangre en cada punto de tiempo tras dispensar el agonista plaquetario; y
- etapa 9: comparar el número de plaquetas tras dispensar agonista plaquetario en cada punto de tiempo con el de las plaquetas originales para calcular la tasa de agregación plaquetaria.
- 20 7. Método analítico para plaquetas según la reivindicación 6, en el que la mezcla de la muestra de sangre se realiza mediante el método de soplado de aire.

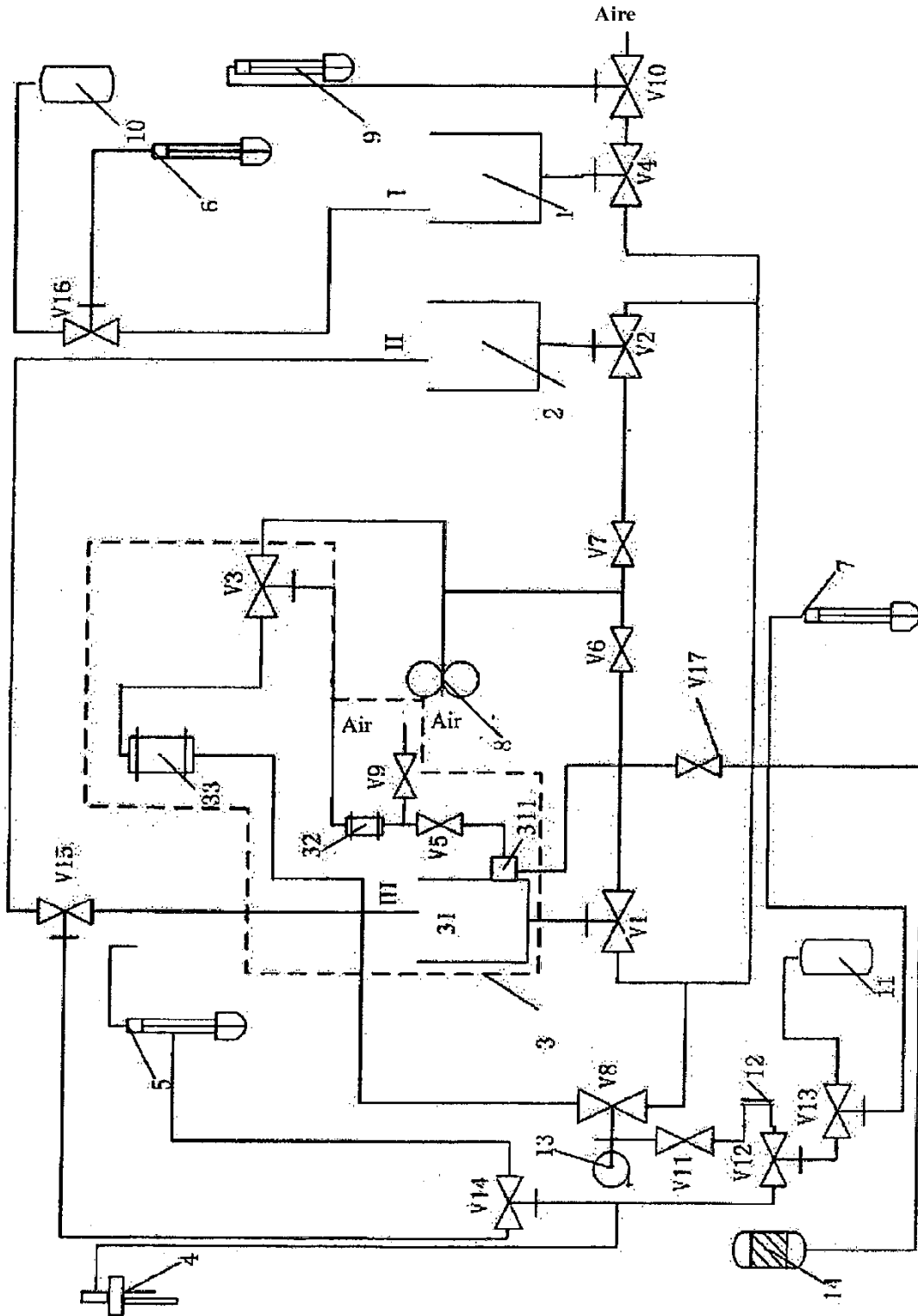


FIG. 1

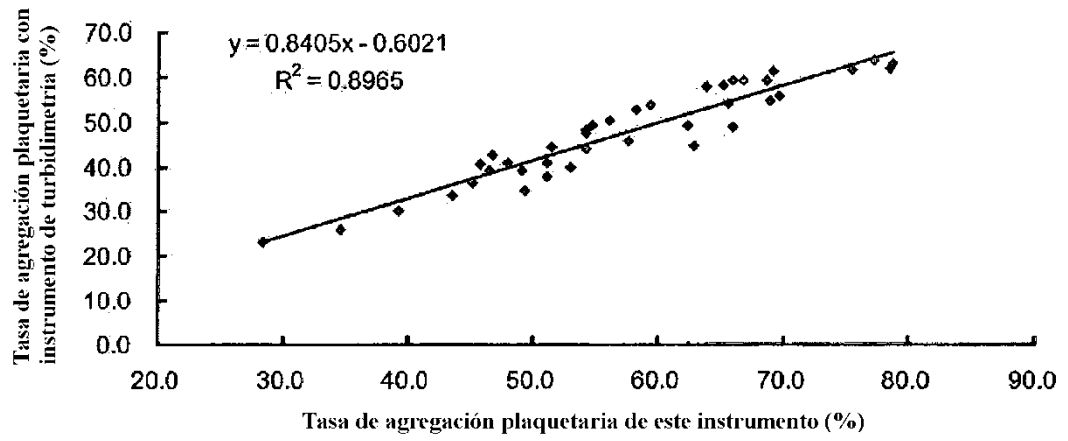


FIG. 2