

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 624 930**

51 Int. Cl.:

B01L 3/02

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.09.2008** **PCT/US2008/011205**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2009** **WO09045343**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2008** **E 08835264 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.03.2017** **EP 2195114**

54 Título: **Punta de pipeta instrumentada**

30 Prioridad:

29.09.2007 US 995752 P

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

18.07.2017

73 Titular/es:

EL SPECTRA, LLC (100.0%)
260 Northwood Way
Ketchum, Idaho 83340, US

72 Inventor/es:

AYLIFFE, HAROLD E. y
KING, CURTIS S.

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 624 930 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

Punta de pipeta instrumentada

5 Campo técnico

Esta invención se refiere a dispositivos para extraer una muestra de fluido de un recipiente de fluido a granel mientras se interroga eléctricamente la muestra.

10 Antecedentes

Las pipetas de mano, que se usan para medición y administración de precisión de volúmenes de fluido, son algunas de las herramientas de laboratorio más comunes y de amplio uso de que disponen los científicos hoy día. Casi todo el manejo de fluidos de bajo volumen de muestras líquidas biológicas y químicas se basa en su facilidad de uso, precisión y repetibilidad para asegurar un procesamiento experimental apropiado y consistente. Las pipetas comerciales están disponibles en una amplia variedad de volúmenes fijos y ajustables. Cuando se usan en pruebas de alta producción a gran escala, las pipetas comercialmente disponibles son a menudo de canales múltiples, que permiten una dosificación exacta de fluido de hasta 12 muestras diferentes, simultáneamente, con el solo pulsar un botón. Los instrumentos de pipeta típicos se basan en sistemas de desplazamiento positivo (por ejemplo, un sistema de pistón de accionamiento manual o una bomba electrónica) para generar la presión requerida para introducir o sacar un volumen de fluido especificado a/de una punta de pipeta desechable. Una vez expulsada la muestra, la punta de pipeta se desecha. Los instrumentos de pipeta de la técnica actual son capaces de dosificar exactamente volúmenes de fluido de menos de 1 ml, y emplean servo bombas para control de volumen y dosificación de fluido. Pantallas digitales con controles electrónicos integrados mejoran la facilidad de uso del instrumento de pipeta por parte del operador.

En el laboratorio, se encuentran pipetas en entornos de sobremesa húmedos y se usan en incontables aplicaciones de medición de fluidos que van desde la mezcla de fluido al aislamiento de la muestra y la preparación. En biología celular experimental, se usan de forma rutinaria pipetas para aislar suspensiones de pequeño volumen de células en cultivo. En uno de los procedimientos más comunes, contar manualmente (bajo observación al microscopio) una pequeña porción de las células en un volumen exactamente medido permite al usuario hacer estimaciones de población y viabilidad celular para todo el volumen de células en cultivo. Por desgracia, contar células al microscopio usando este acercamiento es una tarea muy lenta y de uso intensivo de recursos, y la exactitud del recuento depende completamente del número de células que el usuario desee contar realmente en el volumen dado.

Trabajos pioneros en la detección de partículas midiendo la desviación de impedancia producida por partículas que fluyen a través de un agujero pequeño entre dos recipientes de fluidos conductores eléctricos se describe en US 2.656.508 de W. H. Coulter. El nombre del inventor está asociado ahora con el principio de que las partículas producen un cambio en la impedancia eléctrica cuando ocluyen una porción del agujero. Desde la publicación de su patente, se ha dedicado un esfuerzo considerable a desarrollar y refinar dispositivos de detección que operan bajo el principio de Coulter. Las patentes de Estados Unidos relevantes incluyen 5.376.878 de Fisher, 6.703.819 de Gascoyne y colaboradores, 6.437.551 de Krulevitch y colaboradores, 6.426.615 de Mehta, 6.169.394 de Frazier y colaboradores, 6.454.945 y 6.488.896 de Weigl y colaboradores, 6.656.431 de Holl y colaboradores, y 6.794.877 de Blomberg y colaboradores.

El documento WO 2005/121780 A describe una punta de pipeta incluyendo un sensor para detectar parámetros de fluido.

Sería una mejora proporcionar un dispositivo de interrogación de fluido de precisión que sea capaz de dosificar cantidades muy exactas de un fluido para formar una muestra, e interrogar eléctricamente dicha muestra para determinar una o varias características, tal como el recuento de partículas por unidad de volumen. Sería otro avance que el aparato se realizase como un dispositivo de bajo costo, de un solo uso, resistente y desechable.

55 Resumen de la invención

La invención se define en las reivindicaciones anexas.

Una punta de pipeta según la invención se caracteriza porque dicho cuerpo incluye una pluralidad de capas configuradas y dispuestas para proporcionar al menos una porción de dicho recorrido de fluido entremedio, y porque dicho componente sensor incluye una primera traza conductora eléctrica soportada entre capas adyacentes primera y segunda, estando dispuesta al menos una primera porción de dicha primera traza para contactar fluido que fluye a lo largo de dicho recorrido de fluido, y una segunda traza conductora eléctrica soportada entre capas adyacentes, estando dispuesta al menos una segunda porción de dicha segunda traza para contactar fluido que fluye a lo largo de dicho recorrido de fluido, estando espaciadas dicha primera porción y segunda porción a lo largo de dicho recorrido de fluido.

Deseablemente, las realizaciones de un componente sensor operable están configuradas y dispuestas para determinar el recuento volumétrico de partículas. A veces, el componente sensor puede estar configurado y dispuesto para determinar un caudal de fluido a lo largo del recorrido de fluido. Opcionalmente, el componente sensor puede estar configurado y dispuesto para detectar la presencia de un borde límite de fluido en una posición particular a lo largo del recorrido de fluido.

En algunos casos, una segunda traza conductora eléctrica puede soportarse entre capas adyacentes, estando dispuesta al menos una segunda porción de la segunda traza para contactar fluido que fluye a lo largo del recorrido de fluido. A veces, la primera porción y la segunda porción pueden soportarse entre las mismas capas o soportarse entre capas diferentes. Otras veces, la primera porción y la segunda porción pueden soportarse entre las mismas capas o entre capas diferentes.

En algunas realizaciones, parte del recorrido de fluido se define por una longitud de lumen que abarca un volumen conocido. Además, la primera porción se puede disponer con relación a la longitud de lumen efectiva para indicar el paso a través de la punta de pipeta de una cantidad de fluido incluyendo un volumen de muestra correspondiente a dicho volumen conocido.

Algunas realizaciones pueden incluir una estructura adaptada para permitir la detección de la punta cuando la punta está instalada en una pipeta. La punta de pipeta puede usarse ventajosamente en combinación con una pipeta que esté configurada y dispuesta para acoplar con el extremo próximo de la punta de pipeta. Deseablemente, acoplar la punta a la pipeta es efectivo para permitir la aplicación de aspiración a una porción próxima del recorrido de fluido. Además, es deseable para el acoplamiento que la punta y la pipeta pongan el componente sensor en circuito con el aparato de interrogación eléctrica.

Una punta de pipeta según la invención puede acoplarse a una pipeta estructurada de forma cooperante y efectiva para poner el componente sensor en comunicación eléctrica con un aparato de interrogación eléctrica, y para poner un extremo próximo del recorrido de fluido en comunicación con una fuente de aspiración. Entonces, se aplica una presión de movimiento de fluido efectiva para aspirar una muestra a la punta de pipeta. Al menos una porción de la muestra es interrogada eléctricamente cuando dicha porción fluye a lo largo del recorrido de fluido y pasa por el componente sensor. Los datos recogidos por el componente sensor pueden mostrarse en una pantalla de visualización asociada con la pipeta, y/o transferirse a un ordenador para posterior análisis o almacenamiento. Después de la terminación de análisis de muestras de fluido, la punta de pipeta usada se desecha.

Un método preferido de aplicar aspiración abarca generar una presión de aspiración excedente que luego se puede reducir por una estructura asociada con la pipeta efectiva para aplicar: i) una primera presión de aspiración operable para aspirar una muestra a la punta de pipeta; e ii) un perfil de presión de aspiración deseado posterior en el tiempo.

Estas características, ventajas, y aspectos alternativos de la presente invención serán evidentes a los expertos en la técnica a partir de una consideración de la descripción detallada siguiente tomada en combinación con los dibujos acompañantes.

Breve descripción de los dibujos

En los dibujos, que ilustran lo que se consideran actualmente los mejores modos de llevar a la práctica la invención:

La figura 1 es una vista en perspectiva de una pipeta y punta de pipeta instalada.

La figura 2 es una vista en perspectiva de una punta de pipeta actualmente preferida.

La figura 3 es una vista en planta superior de la punta de pipeta ilustrada en la figura 2.

La figura 4 es una vista en planta inferior de la punta de pipeta ilustrada en la figura 2.

La figura 5 es una vista de conjunto despiezada desde arriba de la punta de pipeta ilustrada en la figura 2.

La figura 6 es una vista de conjunto despiezada desde debajo de la punta de pipeta ilustrada en la figura 2.

La figura 7 es una vista en planta superior de una porción de sustrato de la punta de pipeta ilustrada en la figura 2.

La figura 8 es una vista en planta inferior de una porción de sustrato de la punta de pipeta ilustrada en la figura 2.

La figura 9 es una vista lateral despiezada de la punta de pipeta ilustrada en la figura 2.

La figura 10 es una vista en sección transversal de una estructura que puede estar presente en algunas puntas de pipeta estructuradas según algunos principios de la presente invención.

La figura 11 es una vista de conjunto despiezada de una punta de pipeta y una pipeta de sobremesa ejemplar.

Y la figura 12 ilustra un perfil de presión aplicado (aspiración) deseable durante un uso ejemplar de una realización estructurada según algunos principios de la presente invención.

Modos de llevar a la práctica la invención

Ahora se hará referencia a los dibujos en los que los varios elementos de la invención recibirán designaciones numéricas y en los que la invención se explicará con el fin de que los expertos en la técnica puedan hacer y usar la invención. Se ha de entender que la descripción siguiente es solamente ejemplar de los principios de la presente invención, y no deberá considerarse como limitación de las reivindicaciones que siguen.

En el sentido en que se usa de ordinario en esta descripción, y a no ser que lo contrario sea obvio por el contexto, el término “fluido” puede incluir un líquido solo, uno o más líquidos en una mezcla, o uno o más líquidos y partículas arrastradas o suspendidas en ellos. Deseablemente, un fluido tendrá propiedades electrolíticas.

El término “partícula” y sus variantes pretenden abarcar un pequeño fragmento de materia, incluyendo de forma no exclusiva una célula biológica viva o muerta, y una molécula.

A no ser que sea evidente lo contrario en el contexto, se pretende medir la “presión” y la “aspiración” con respecto a la presión atmosférica local.

Una punta de pipeta puede definirse como un conducto prolongado extraíble que forma un puente para flujo de fluido de muestra desde una fuente de fluido a granel hacia una pipeta. Una punta de pipeta incluye un cuerpo típicamente fino al que se aspira una pequeña cantidad de fluido para transferencia, medición o análisis. Un extremo próximo de una punta de pipeta está estructurado para montaje extraíble en una estructura de anclaje cooperante de una pipeta. Un extremo distal de una punta de pipeta está estructurado para su recepción dentro de un recipiente de muestra que tiene una abertura de tamaño típicamente pequeño, tal como un tubo de prueba. Una punta de pipeta ejemplar 100 se ilustra en la figura 1.

Una pipeta se define como un instrumento o dispositivo que está adaptado para acoplar con, y aspirar una muestra de fluido a, una punta de pipeta. La pipeta está estructurada para aplicar vacío al extremo próximo de una punta de pipeta. Una pipeta puede ser de mano, tal como la pipeta 102 ilustrada en la figura 1. La pipeta 102 incluye un pistón accionado con el pulgar 104 y una pantalla de visualización 106. Alternativamente, una pipeta puede realizarse como un dispositivo de sobremesa, tal como la pipeta 108 ilustrada en la figura 12. En cualquier caso, una pipeta se usa típicamente para obtener una o varias muestras de fluido, teniendo cada muestra un tamaño repetible del orden de menos de 1 µl, a varios µl, a tal vez 1.000 µl o más.

Una punta de pipeta actualmente preferida se indica en general en 110 en las figuras 2 a 6. La punta de pipeta 110 está estructurada para extraer una muestra de fluido de un recipiente de fluido a granel que tiene una abertura de acceso relativamente pequeña, tal como un vial de 1,5 ml. La punta de pipeta 110 incluye un cuerpo 112 que está estructurado para aspirar fluido a lo largo de un recorrido de fluido que se extiende desde un extremo distal 114 hacia un extremo próximo 116. En general, el fluido puede ser empujado de manera que fluya a través del cuerpo 112 aplicando una presión diferencial de movimiento de fluido al recorrido de fluido. Típicamente, la presión de movimiento de fluido es producida por la aplicación de una presión baja (o aspiración) a una porción próxima del recorrido de fluido. La punta de pipeta 110 incluye un orificio de aspiración 118 que está en comunicación con una porción próxima del recorrido de fluido a través del cuerpo 112 (véase la figura 4). La aspiración se aplica en general al orificio 118 con una pipeta, tal como la pipeta 102 o 108.

La punta de pipeta 110 incluye una pluralidad de almohadillas de contacto eléctrico, generalmente 120, que se soportan en el extremo próximo 116. Como se explicará con más detalle más adelante, tales almohadillas de contacto son porciones visibles de trazas conductoras eléctricas, que se han configurado y se extienden a varias posiciones a través del cuerpo 112. Deseablemente, al menos una porción de al menos una traza está dispuesta para contactar fluido que fluye a lo largo del recorrido de fluido en el cuerpo 112. Tal construcción pone un componente sensor (por ejemplo, la porción humedecida de la traza) en el recorrido de fluido efectivo para interrogar eléctricamente el fluido que fluye a lo largo del recorrido de fluido.

Deseablemente, la estructura dispuesta en el extremo próximo del cuerpo 112 está configurada y dispuesta en armonía con la estructura de acoplamiento de una pipeta de tal manera que la punta 110 pueda instalarse solamente en una orientación operable. Con referencia a la figura 2, el extremo próximo ilustrado 116 forma una lengüeta que puede engancharse dentro de una cavidad de recepción formada de forma cooperante de una pipeta. Como se ilustra en las figuras 2 y 3, salientes 122 dispuestos cerca del extremo próximo 116 del cuerpo 112 están estructurados para formar un rebaje 124. La sección transversal del extremo próximo 116 encaja por ello en recepción en una cavidad de recepción formada de forma cooperante de una pipeta solamente en la orientación deseada. La introducción del extremo próximo 116 en la cavidad de recepción pone una fuente de aspiración asociada con la pipeta en comunicación con el orificio 118. Además, la instalación de la punta 110 en una pipeta

pone deseablemente contactos eléctricos de un conector eléctrico en comunicación operable con almohadillas de contacto 120. Una porción de ala próxima 126 está estructurada como un tope para limitar la profundidad de introducción de la punta 110 en la cavidad de recepción de pipeta.

Con referencia ahora a las figuras 5 y 6, se puede ver que una punta de pipeta operable 110 incluye una pluralidad de capas. La capa base ilustrada 130 se ha moldeado por inyección a partir de plástico de grado médico. La capa de canal 132 se ha formado a partir de cinta de poliéster adhesiva de dos caras. La capa de sustrato 134 se ha formado a partir de película de poliéster. La capa de canal 136 se ha formado a partir de cinta de poliéster adhesiva de dos caras. La sobrecapa 138 se ha formado a partir de película de poliéster. A veces, puede incluirse un filtro, tal como el filtro ilustrado 140. El filtro ilustrado 140 es un filtro de red de nylon con poros de 30 micras, y se usa en algunas puntas de pipeta que se usan en aplicación a interrogación de células sanguíneas.

La punta de pipeta 110 incluye un orificio de muestra de abertura distal 142, dispuesto en general en la punta distal de la punta de pipeta 110. Aunque el orificio 142 se ilustra dispuesto solamente en la capa base 130, también se contempla que la abertura distal 142 pueda formarse por un canal dispuesto en una o más capas. Como se ilustra, el orificio 142 está dispuesto típicamente en el borde de la punta 110. Una abertura de muestra operable alternativa puede estar estructurada con una abertura transversal a través de un lado de la punta de pipeta. En cualquier caso, el orificio 142 permite aspirar una muestra de fluido a la cámara distal 144. Puede facilitarse un canal distal opcional 146 dispuesto en la capa 132 para aumentar el volumen de la cámara distal 144.

El extremo próximo de la cámara 144 comunica a través del agujero 148, el filtro 140 y el agujero 150 con una porción distal del canal 152. El canal 152 está configurado para hacer que un fluido de muestra aspirado fluya sobre uno o varios electrodos superficiales, tal como un electrodo estimulado 154. Una porción próxima del canal 152 comunica con una porción próxima del canal 156 por medio de un agujero de interrogación 158. El canal 156 también está configurado para hacer que un fluido de muestra aspirado fluya sobre uno o varios electrodos superficiales. Una porción distal del canal 158 comunica fluido a una porción distal del canal 160. Entonces puede aspirarse fluido a lo largo del canal 160 hacia la cámara de recepción 162. La aspiración aplicada al orificio de aspiración 118 comunica con la cámara 162, y proporciona una fuerza de movimiento de fluido efectiva para empujar el flujo de fluido desde un recipiente a granel al orificio de muestra 142, y hacia la cámara 162. Una ventana 164 está dispuesta en la capa de canal 132 para que fluido cerca del extremo próximo de canal 160 pueda contactar un electrodo superficial soportado en la parte inferior de la capa de sustrato 134.

A veces, y como se ilustra en las figuras 4 y 6, una punta de pipeta puede incluir una estructura de extracción configurada para asistir la extracción de la punta de la correspondencia de acoplamiento con una pipeta. Como un ejemplo, puede incluirse una rampa 166 en una punta 110 para proporcionar una superficie de captación, indicada en general en 168, contra la que la estructura de extracción de punta puede empujarse para impartir una fuerza de extracción orientada axialmente a la punta 100.

Con referencia ahora a las figuras 7 y 8, una pluralidad de trazas conductoras eléctricas están configuradas sobre las superficies superior e inferior del sustrato 134. En la realización ilustrada, los extremos próximos de las trazas conductoras eléctricas forman diez almohadillas de contacto eléctrico, indicadas en general en 120, y cuyas almohadillas impares se numeran 1, 3, 5, 7 y 9. Se prefiere actualmente disponer todas las almohadillas de contacto en un solo lado del sustrato 134, y en una configuración dispuesta de acuerdo con el acoplamiento con un conector eléctrico de diez patillas disponible en el mercado. Naturalmente, el número y la disposición de las trazas dependerán de la capacidad deseada de la punta de pipeta resultante.

Obsérvese que se han dispuesto vías, tal como se indica en general en 170 y 172, para permitir que algunas almohadillas de contacto comuniquen a través del grosor con electrodos y/o elementos de traza dispuestos en el lado opuesto del sustrato 134. Las vías pueden considerarse como agujeros formados en el sustrato 134. Material conductor, tal como la tinta conductora actualmente preferida, que se aplica en una configuración deseada a cada lado del sustrato 134, forma una conexión eléctrica que se extiende a través de la vía (desde un lado al otro del sustrato 134).

El elemento de traza 174 está dispuesto en la parte inferior del sustrato 134, básicamente como un puente, para poner el adaptador de contacto número 1 en comunicación eléctrica fija con el adaptador de contacto número 10. Tal disposición puede usarse para proporcionar una señal de realimentación para varios usos, tal como para permitir la verificación de la instalación correcta de la punta 110 en correspondencia asentada con una pipeta, tal como la pipeta 102. Se contempla que la pipeta pueda detectar la punta de pipeta en base a tal realimentación, y que luego pueda ejecutar una prueba seleccionada en base al tipo de punta que se detecte. Por ejemplo, puede usarse una prueba de continuidad eléctrica entre varias almohadillas de contacto individuales para distinguir entre varias configuraciones de traza diferentes de puntas de pipeta que tienen la disposición de almohadilla de contacto de 10 patillas 120. En el caso ilustrado, la continuidad eléctrica entre las almohadillas de contacto 1 y 10 también se puede usar para indicar que la pipeta 110 está configurada como un contador de partícula, entre otros usos. En el caso donde una punta de pipeta diferente esté estructurada por ejemplo, solamente para medir exactamente cantidades de fluido de una o varias muestras aspiradas o dispensadas en serie, el elemento de traza 174 podría omitirse o usarse como un conector entre diferentes almohadillas de contacto para proporcionar una "firma" electrónica

diferente.

Una porción próxima del elemento de traza 175 forma la almohadilla de contacto número 2. Una porción distal del elemento de traza 175 forma el electrodo estimulado 154. Una porción próxima del elemento de traza 176 forma la almohadilla de contacto número 3. Una porción distal del elemento de traza 176 forma el electrodo de detección 178. Los electrodos 154 y 178 están configurados para disponer zonas superficiales relativamente grandes en contacto con el fluido que fluye a través del canal 152 (véase la figura 5).

Una porción próxima del elemento de traza 180 forma la almohadilla de contacto número 4. El elemento de traza 180 comunica entre la superficie superior e inferior del sustrato 134 a través de la vía 182. Una porción distal del elemento de traza 180 forma el electrodo de detección 184. Una porción próxima del elemento de traza 186 forma la almohadilla de contacto número 5. El elemento de traza 186 comunica entre la superficie superior e inferior del sustrato 134 a través de la vía 188. Una porción distal del elemento de traza 186 forma un electrodo estimulado 190. Los electrodos 184 y 190 están configurados para disponer zonas superficiales relativamente grandes en contacto con el fluido que fluye a través del canal 156 (véase la figura 6). Las zonas superficiales grandes de algunos electrodos, tal como los electrodos 154 y 190, permiten que la aplicación de una señal eléctrica a las almohadillas de contacto correspondientes obtenga un flujo deseado de corriente entre tales electrodos.

Una porción próxima del elemento de traza 192 forma la almohadilla de contacto número 6. Una porción distal del elemento de traza 192 (dispuesto en la parte inferior de sustrato 134) forma un electrodo de superficie que está dispuesto para detectar un frente de fluido, tal como el borde delantero, o de salida, de una columna de electrolito que avanza a lo largo del canal 160. La detección del cambio en una señal en un electrodo puede ser usada para determinar la posición del límite de fluido en un punto en el tiempo. Tal información puede ser usada en combinación con un volumen conocido, a través del que se ha aspirado el fluido, para determinar el caudal de fluido. La información de posición de límite también puede usarse para verificar la extracción de un volumen deseado, o para comprobar si hay burbujas de aire en una muestra.

En una disposición simple, una punta de pipeta instrumentada puede incluir un solo electrodo dispuesto en una posición conocida en un canal de flujo de fluido a través de la punta. Puede aplicarse una señal eléctrica a un recipiente a granel de fluido electrolítico. El fluido puede ser aspirado a la punta de pipeta instrumentada, y una posición del borde delantero del fluido puede detectarse supervisando la señal en el electrodo. Una vez que la columna de electrolito llega al electrodo, puede detectarse una señal en dicho electrodo. La señal obtenida en el electrodo puede ser usada como un evento de disparo, tal como para iniciar un procedimiento de prueba, o para dejar de aspirar fluido.

Una porción de extremo próximo del elemento de traza 194 forma la almohadilla de contacto número 7. Una porción de extremo próximo del elemento de traza 196 forma la almohadilla de contacto número 8. La almohadilla de contacto número 9 no es eléctricamente funcional en la punta de pipeta ilustrada 110. Las porciones distales del elemento de traza 194 y 196 están dispuestas como electrodos de superficie efectivos para determinar la presencia de un límite de fluido en posiciones espaciadas a lo largo de la porción distal de canal 156. El volumen rodeado por el canal 160 y dispuesto entre los electrodos 192 y 194 puede definirse para correlación con un tamaño deseado de muestra de fluido.

El recorrido de flujo de fluido a través de una punta de pipeta 110 se indica como una serie de líneas de trazos que indican tramos diferentes del flujo de fluido en la figura 9. En contraposición al flujo de fluido sustancialmente unidireccional en una punta de pipeta convencional, el recorrido de flujo a través de la punta de pipeta 110 sigue una ruta tortuosa. En algunas realizaciones de la puntas de pipeta estructuradas según algunos principios de la presente invención, se puede afirmar que el eje de línea central del flujo de fluido a lo largo de la ruta tortuosa define un espacio tridimensional. Es decir, en varios tiempos, el fluido puede fluir en una dirección longitudinal, en una dirección de la anchura, en la dirección del grosor, o alguna combinación de las mismas. Por ejemplo, el flujo de fluido a lo largo del canal 144 y el tramo indicado 198 es en una dirección (y longitud) próxima. El flujo de fluido a través del agujero de interrogación 158 y el tramo indicado 200 es en una dirección (y grosor) transversal. El flujo de fluido a lo largo del volumen del canal 156 y el tramo indicado 202 es en una distal dirección (y longitud) distal. El flujo de fluido en la porción distal del canal 156 y el tramo indicado con 204 es en una dirección (anchura) generalmente transversal, lo mismo que el flujo a través de las porciones en forma de cuello de cisne del canal 160.

Una sección transversal esquemática de una disposición actualmente preferida operable para detectar y contar partículas arrastradas en un fluido se ilustra en la figura 10, y se indica en general en 210. Se ha formado un recorrido de flujo de fluido 212 como una estructura de canal formada por vacíos de confinamiento de fluido dentro de capas. Deseablemente, al menos en algunas realizaciones, el agujero pasante, o agujero de interrogación 158, está dimensionado para empujar partículas que son arrastradas en un fluido electrolítico que fluye a través a una fila sustancialmente única. El agujero de interrogación 158 tiene típicamente un tamaño (diámetro) característico de entre aproximadamente 50 nanómetros y 200 micras en algunas puntas de pipeta 100 que se usan para interrogar sangre entera. Como se ilustra en la figura 10, un par de electrodos de recuento de células 178 y 184 están dispuestos en lados opuestos del agujero pasante 158. Electrodos estimulados cooperantes 154 y 190 también están dispuestos (uno hacia arriba y uno hacia abajo) en lados opuestos del agujero pasante formando una zona de

interrogación de cuatro electrodos que abarca el agujero de interrogación 158.

Como se ilustra, actualmente se prefiere que los electrodos de detección estén configurados de tal forma que aseguren su completa humectación cuando el fluido fluya a lo largo del recorrido de flujo 212. Es decir, los electrodos 178 y 184 están "retirados" a lo largo del recorrido de flujo de agujero 158. La configuración ilustrada resiste cambios en la amplitud o la calidad de señal cuando la zona humedecida del electrodo cambia, tal vez debido a la presencia de una burbuja sobre una porción del electrodo.

En el uso del dispositivo ilustrado 210 para detectar y contar partículas, puede aplicarse una señal de corriente constante dependiente del tiempo por un generador de señal 214 a electrodos estimulados 154 y 190. Los electrodos estimulados están dimensionados deseablemente de manera que presenten un área superficial humedecida significativa para facilitar la llegada de una corriente eléctrica al fluido y la zona de interrogación 158. Electrodos de detección o recuento 178 y 184 están dispuestos en circuito para medir el cambio de voltaje diferencial a través del agujero de interrogación 158.

Se contempla alternativamente formar una zona de interrogación de 2 electrodos o de 3 electrodos. Por ejemplo, uno u otro electrodo de detección 178 y 184 puede colocarse alternativamente en circuito para detectar cambios en una señal medida con relación a uno de los electrodos estimulados dispuestos en el otro lado del agujero de interrogación 158, o con relación a tierra. Se deberá indicar que una señal eléctrica aplicada (por ejemplo, aplicada por el generador de señal 214) puede ser sustancialmente constante (CC) o dependiente del tiempo (CA), dependiendo del elemento de datos que se desee obtener.

El electrodo de detección 178 puede considerarse como un electrodo de superficie que contacta fluido solamente en una porción del perímetro del recorrido de flujo de un canal que pasa sobre una porción de su área superficial. Se contempla alternativamente formar una zona de interrogación que tenga electrodos de grosor dispuestos, por ejemplo, formando todo el perímetro del canal o recorrido de flujo de fluido. Tales electrodos pueden disponerse en serie a lo largo del recorrido de flujo. Por ejemplo, un par de electrodos de superficie se puede disponer en lados opuestos de un primer sustrato. Electrodos de superficie adicionales pueden ser soportados por uno o varios sustratos adicionales, puede disponerse un espaciador aislante entre tales electrodos adyacentes, y una pluralidad de sustratos pueden apilarse y unirse para disponer una colección laminada de electrodos de superficie en serie transversal. Entonces puede perforarse un agujero de interrogación 158 transversalmente a través de los electrodos apilados y capas aislantes para formar una zona de interrogación (o conducto perforado) que tiene una pluralidad de electrodos de grosor dispuestos a lo largo de su longitud.

En la figura 11 se ilustra una punta de pipeta 100', que tiene una estructura de montaje con una configuración diferente, generalmente indicada en 218. La estructura de montaje 218 incluye una cavidad 220 fijada a una capa base 130. La cavidad 220 está configurada en armonía con la lengüeta 222 de la pipeta de sobremesa 108 para poder acoplar la punta 100' en comunicación de fluido con el orificio de aspiración 224. El enganche de la cavidad 220 y la lengüeta 222 también pone almohadillas de contacto 120 en comunicación eléctrica con el conector de borde 226. El extremo próximo del sustrato 134' está adaptado para introducción en la ranura 228 para efectuar una conexión eléctrica para comunicación entre un componente sensor soportado por la punta 100' y un aparato de interrogación 230 asociado con la pipeta 108.

Un método representativo para usar una punta de pipeta, tal como la punta de pipeta 110, incluye instalar la punta de pipeta 110 insertando su extremo próximo el la estructura de recepción cooperante de una pipeta, por ejemplo, la pipeta 102 en la figura 1. La pipeta 102 está estructurada para acoplar una fuente de presión (aspiración) de movimiento de fluido al orificio 118 de una punta instalada 110. La instalación de la punta 110 en la pipeta 102 también pone un sensor de base eléctrica de la punta 110 en comunicación con el aparato de interrogación eléctrica asociado con la pipeta 102. El extremo distal 114 de la punta 110 se sumerge en un recipiente de fluido a granel, tal como un vial de 1,5 ml, y se extrae una muestra para iniciar el análisis del fluido. Después de la terminación del análisis, se desecha la punta 110. A los efectos de esta descripción, se prevé que el término "análisis" incluya uno o más de: aspirar o dispensar uno o varios volúmenes, detectar y/o contar partículas, determinar el caudal de muestra, y análogos. Típicamente, los datos recogidos del componente sensor son manipulados y se presentan en la pantalla 106, y pueden ser transferidos a un ordenador para posterior análisis o almacenamiento.

Una pipeta preferida 102 es capaz de generar un exceso de aspiración pulsando simplemente el émbolo 104. El exceso de aspiración puede reducirse entonces (por ejemplo, por electrónica, uno o varios transductores de presión, y la estructura de válvula asociada con la pipeta 102), para aplicar un perfil de presión deseado con el tiempo al orificio 118. Un perfil de presión representativo para una prueba útil se ilustra en la figura 12.

Con referencia a la figura 12, en A, se aplica una presión de aspiración relativamente baja (por ejemplo, aproximadamente 10" de agua) a una punta de pipeta sumergida 114 para aspirar una muestra completa de fluido a la punta 110 durante el incremento de tiempo entre A y B. En muchas circunstancias, la muestra de fluido parará por sí misma en la zona de detección de célula (agujero 158) debido a la tensión superficial en el agujero pequeño. Alternativamente, puede usarse realimentación de un electrodo para determinar la adquisición completa de la muestra. En el incremento de tiempo entre B y C, se aplica brevemente un breve vacío pico (por ejemplo, de

aproximadamente 30" de agua) para aspirar el fluido a través del agujero de interrogación 158. Típicamente, la presión durante la prueba (de D a E) se reduce y se mantiene deseablemente sustancialmente constante (por ejemplo, a un valor seleccionado de entre aproximadamente 1-25 psi dependiendo del tamaño de agujero, el fluido portador, y la(s) partícula(s) a interrogar, entre otras variables). Un incremento de tiempo representativo durante el que se carga una muestra en una realización de una punta de pipeta 110 es de aproximadamente 5 segundos o menos. Un incremento de tiempo representativo en el que se aplica el vacío pico es de aproximadamente 1 segundo. Dicho eso, el vacío pico no siempre es necesario. Puede ser posible hacerlo con un mínimo de incluso un solo parámetro de vacío. Un perfil de vacío deseable depende, en parte, del tamaño del agujero de sensor de detección 158 que se use. Los agujeros más grandes 158 pueden no requerir picos, etc. La etapa de adquisición de datos de una prueba de recuento de partículas en una muestra en suspensión de partículas representativa tarda aproximadamente 30 segundos.

Las puntas de pipeta actualmente preferidas, estructuradas igual que la punta de pipeta 110, usan aproximadamente 25 microlitros como el tamaño de muestra. Se contempla también proporcionar puntas de pipeta capaces de analizar muestras de un tamaño menor (incluyendo mucho menor) o mayor. Una punta de pipeta contemplada para uso en análisis de partícula puede aspirar 50 microlitros, o incluso mucho más. Un tamaño de muestra más grande significa en general aún más precisión (algo ventajoso), pero más muestra (a menudo, algo inconveniente).

Una punta de pipeta operable 100 puede fabricarse usando una técnica de coger y poner o de carrete a carrete. Actualmente se prefiere que las capas aislantes eléctricas se formen a partir de materiales plásticos a modo de película flexibles, incluyendo poliamidas y poliésteres tal como Mylar y Kapton, respectivamente. Los canales, como el canal 156, pueden cortarse a troquel, o maquinarse por chorro de agua o láser. Se aplican trazas conductoras eléctricas a porciones deseadas de una o varias capas. El agujero de interrogación 158 de una punta de pipeta actualmente preferida 100 se perfora con láser a través del sustrato 134 antes del montaje de capas adyacentes. Las capas se apilan típicamente en correspondencia y se unen. En la producción en serie, puntas de pipeta individuales montadas 100 pueden cortarse a troquel a partir de una hoja laminada o longitud de cinta laminada. Algunas películas de poliéster operables se pueden obtener en el mercado de Dupont Teijin.

Los elementos de traza conductores eléctricos pueden formarse a partir de metal o aleaciones de metales, incluyendo aluminio, platino, oro, cobre, plata, cromo, titanio y análogos, aunque sería suficiente cualquier otro material conductor eléctrico operable. Actualmente es preferible aplicar los elementos de traza sobre un sustrato de película aislante eléctrico para mejorar las características de manejo de material durante el montaje de la punta de pipeta. La aplicación de un elemento de traza a una capa de transporte se puede llevar a cabo por electrochapado, o usando algún otro método de deposición conocido, tal como técnicas de serigrafía, tecnología de inyección de tinta, ataque químico con láser, técnicas de deposición catódica o electrodeposición y análogos. También puede usarse métodos de micromaquinado, tal como enmascaramiento y ataque químico para formular estructuras individuales de elementos de traza conductores.

En un método de fabricación actualmente preferido, se preforman vías a través del grosor en el sustrato, y luego se imprimen los electrodos para formar un recorrido conductor eléctrico a través de tales vías. Típicamente, primero se imprime una traza sobre una superficie de un sustrato. A continuación, el sustrato se imprime de nuevo desde el lado trasero, controlando con cuidado cómo sale la tinta por cualquier vía (agujero) para evitar la conexión indeseada entre trazas. Cuando la tinta fluye a través de la vía de cada lado y se seca, se realiza una conexión eléctrica. La serigrafía que forma la configuración de traza se quita después de la impresión, y el sustrato se coloca típicamente en una secadora. La tinta se cura en general (al menos en cierto grado) antes de la impresión del lado trasero. Actualmente se perforan vías pasantes con un láser (aunque se pueden formar usando otras técnicas tal como con un troquel de regla de acero, troqueles de punzón y troqueles rotativos, etc). Los paneles impresos se secan por lo general después de cada paso de impresión en una secadora industrial. Algunas tintas impresas se curan con luz UV. La serigrafía para la fabricación de alto volumen puede tener lugar en un formato de rollo del tipo de lámina, o aplicaciones del tipo de alimentación de hojas.

Una tinta conductora operable incluye una solución de plata/cloruro de plata, tal como Dupont 5870 Ag/Ag-Cl. Se exponen otras tintas operables en la página web http://www2.dupont.com/MCM/en_US/PDF/biosensor-H9156101.pdf. Pueden obtenerse tintas conductoras eléctricas imprimibles similares de Conductive Technologies, que tiene una página web en <http://www.conductivetech.com>. Son posibles anchuras de línea que forman un elemento de traza, y espaciación entre elementos de traza, de aproximadamente 0,2 mm. Se prefiere en general que la anchura y la espaciación no sean inferiores a 0,3 mm para la mayoría de las aplicaciones. El grosor del material depositado se controla, en alto grado, por el grosor de la serigrafía propiamente dicha.

El grosor de las cuatro capas de película fina en puntas de pipeta actualmente preferidas usadas para interrogar algunas muestras de fluido, incluyendo partículas en suspensión en un líquido portador, es de aproximadamente 0,005 pulgadas cada una. Se contemplan más o menos capas, y una mezcla de capas con grosores diferentes. Cada capa podría formarse potencialmente usando películas de entre, tal vez, aproximadamente 0,0005 pulgadas y 0,035 pulgadas de grosor, más o menos. Un rango de grosor operable para algunos electrodos usados para detección o caracterización de partículas es de entre aproximadamente 0,1 micras (0,000004 pulgadas) y

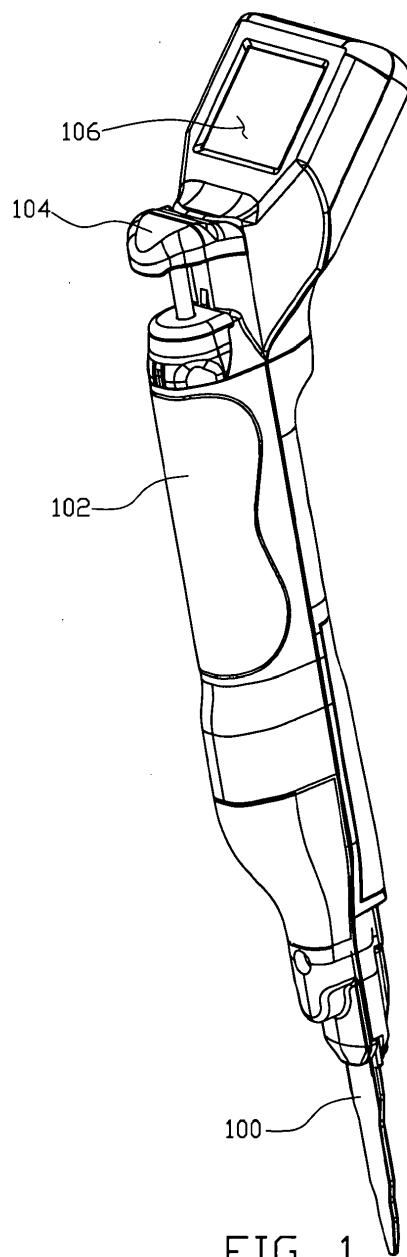
aproximadamente 127 micras (0,005 pulgadas), más o menos. Los electrodos estimulados 154, 190 usados en la detección/recuento de partículas se disponen típicamente de modo que tengan un área superficial relativamente grande (por ejemplo, 70 cm²) en contacto con las soluciones de muestra (que mantiene baja la impedancia de la interfaz electrodo/electrolito). El tamaño (diámetro) característico del agujero de interrogación es de aproximadamente 50 micras. La relación de la longitud del agujero de interrogación (por ejemplo,, 127 micras) al diámetro puede ser importante para algunos procedimientos de caracterización de partículas, y actualmente se mantiene a aproximadamente 2,5. La relación de profundidad a anchura de canal se determina parcialmente por el grosor de cinta que se use, y en general no es un determinante importante del diseño.

Se contempla proporcionar recubrimientos superficiales en sensores estructurados según algunos principios de la presente invención para reducir el impacto procedente del contacto con la estructura sensora y el fluido que pasa a su través. Tal disposición de recubrimiento puede proporcionarse para reducir la cascada de coagulación en muestras de sangre entera, por ejemplo. Los recubrimientos operables en sensores para uso con tales muestras de sangre incluyen Teflon, heparina y materiales a base de PRO.

Aunque la invención se ha descrito en particular con referencia a algunas realizaciones ilustradas, no se ha previsto limitar el alcance de la invención. La presente invención puede realizarse en otras formas específicas sin apartarse de su espíritu o características esenciales. Con respecto a ejemplos no limitadores, una capa puede tener una conformación no plana, y puede extenderse solamente a lo largo de solamente una porción de la longitud de una punta de pipeta. Las realizaciones descritas se han de considerar solamente ilustrativas y no restrictivas. Por lo tanto, el alcance de la invención lo indican las reivindicaciones anexas más bien que la descripción anterior. Todos los cambios que caigan dentro del significado y rango de equivalencia de las reivindicaciones habrán de quedar incluidos dentro de su alcance.

REIVINDICACIONES

1. Una punta de pipeta (110) para uso al extraer una muestra de un recipiente de fluido, incluyendo la punta de pipeta (110) un cuerpo alargado (112) que se extiende entre un extremo próximo (116) y un extremo distal (114) con un recorrido de fluido (198, 200, 202, 204) a través del cuerpo (110) que se extiende desde el extremo distal (114) hacia el extremo próximo (116), y un componente sensor (178) dispuesto para interrogar eléctricamente fluido que fluye a lo largo de dicho recorrido de fluido efectivo para determinar información acerca de dicha muestra; **caracterizándose** dicha punta de pipeta porque dicho cuerpo (112) incluye una pluralidad de capas (130, 132, 134, 136, 138) configuradas y dispuestas para proporcionar al menos una porción de dicho recorrido de fluido entremedio; y
porque dicho componente sensor (178) incluye una primera traza conductora eléctrica (176) soportada entre capas adyacentes primera (134) y segunda (136), estando dispuesta al menos una primera porción (178) de dicha primera traza (176) para contactar fluido que fluye a lo largo de dicho recorrido de fluido y una segunda traza conductora eléctrica (175 o 180) soportada entre capas adyacentes (134 y 136; o 134 y 132), estando dispuesta al menos una segunda porción (154 o 184) de dicha segunda traza para contactar fluido que fluye a lo largo de dicho recorrido de fluido; estando espaciada dicha primera porción y la segunda porción a lo largo de dicho recorrido de fluido.
2. El aparato según la reivindicación 1, donde:
dicha primera porción (178) y dicha segunda porción (154) se soportan entre las mismas capas.
3. El aparato según la reivindicación 1, donde:
dicha primera porción (178) y dicha segunda porción (184) se soportan entre capas diferentes.
4. El aparato según la reivindicación 1, donde: dicho componente sensor (160, 178, 184, 192, 194, o 196) está configurado y dispuesto para facilitar la determinación del recuento volumétrico de partículas.
5. El aparato según la reivindicación 1, donde:
dicho componente sensor (160, 192, 194) está configurado y dispuesto para facilitar la determinación del caudal de fluido a lo largo de dicho recorrido de fluido.
6. El aparato según la reivindicación 1, donde:
dicho componente sensor (194) está configurado y dispuesto para detectar la presencia de un borde límite de fluido en una posición conocida a lo largo de dicho recorrido de fluido.
7. El aparato según la reivindicación 1, donde:
una parte de dicho recorrido de fluido se define por una longitud de lumen (160) que abarca un volumen conocido; y
una porción de una traza (192) está dispuesta con relación a dicha longitud de lumen como parte de una disposición efectiva para indicar el paso a través de dicha punta de pipeta de una cantidad de fluido incluyendo un volumen correspondiente a dicho volumen conocido.
8. El aparato según la reivindicación 1, donde:
dicho recorrido de fluido es una ruta tortuosa incluyendo:
una primera extensión (198) que está configurada y dispuesta para hacer que un vector de flujo de fluido se oriente sustancialmente en una dirección próxima;
una segunda extensión (204) que está configurada y dispuesta para hacer que un vector de flujo de fluido tenga un componente orientado en una dirección transversal a dicha dirección próxima; y
una tercera extensión (202) que está configurada y dispuesta para hacer que un vector de flujo de fluido se oriente sustancialmente en una dirección distal.



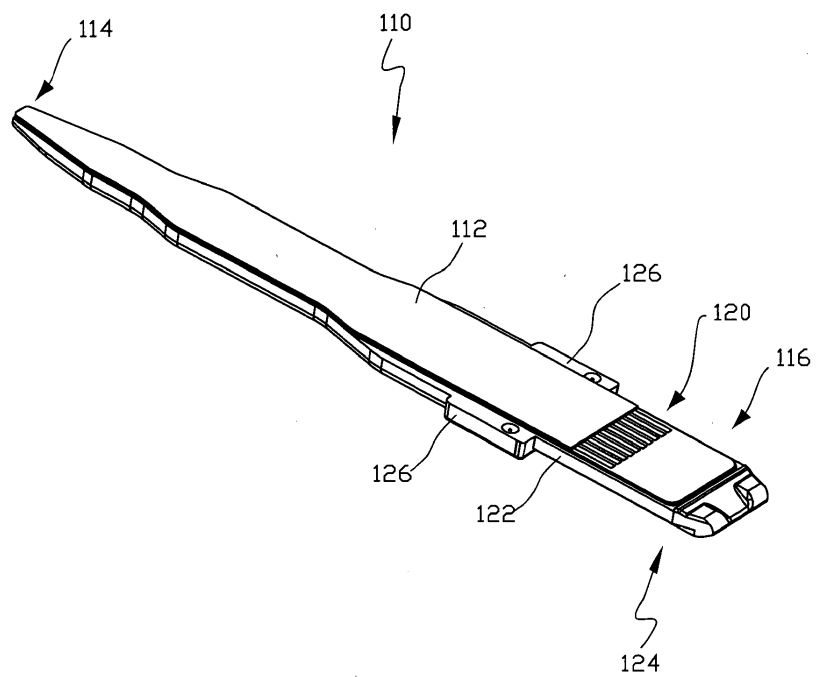


FIG. 2

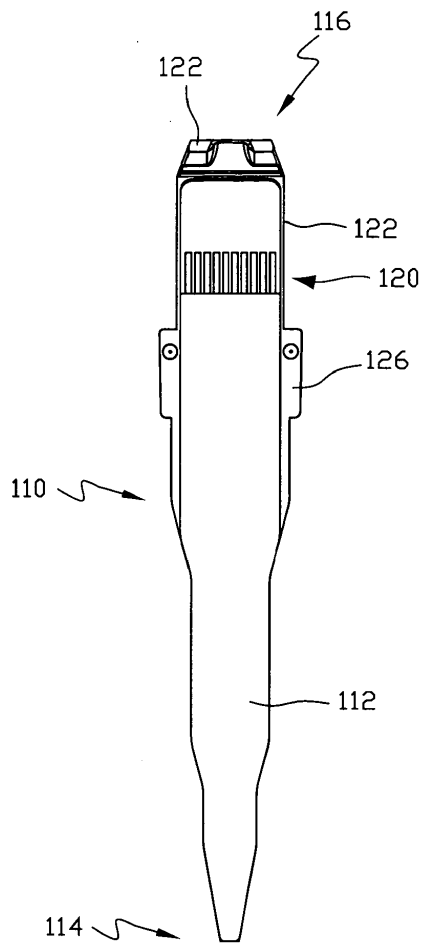


FIG. 3

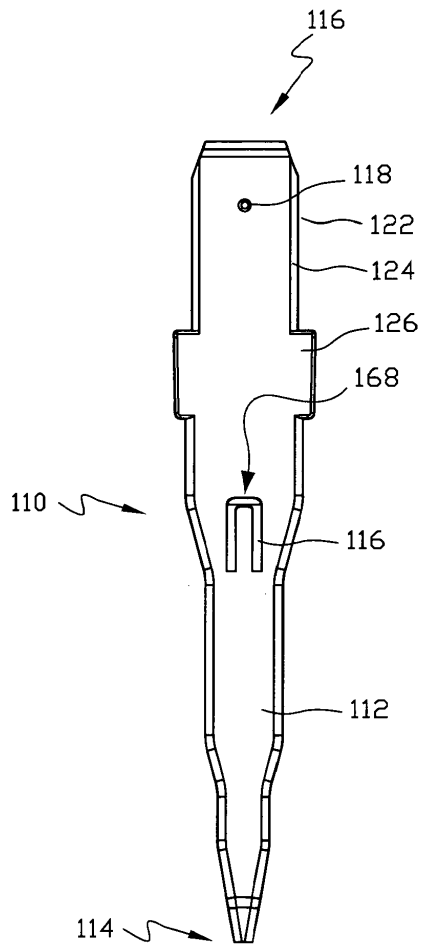


FIG. 4

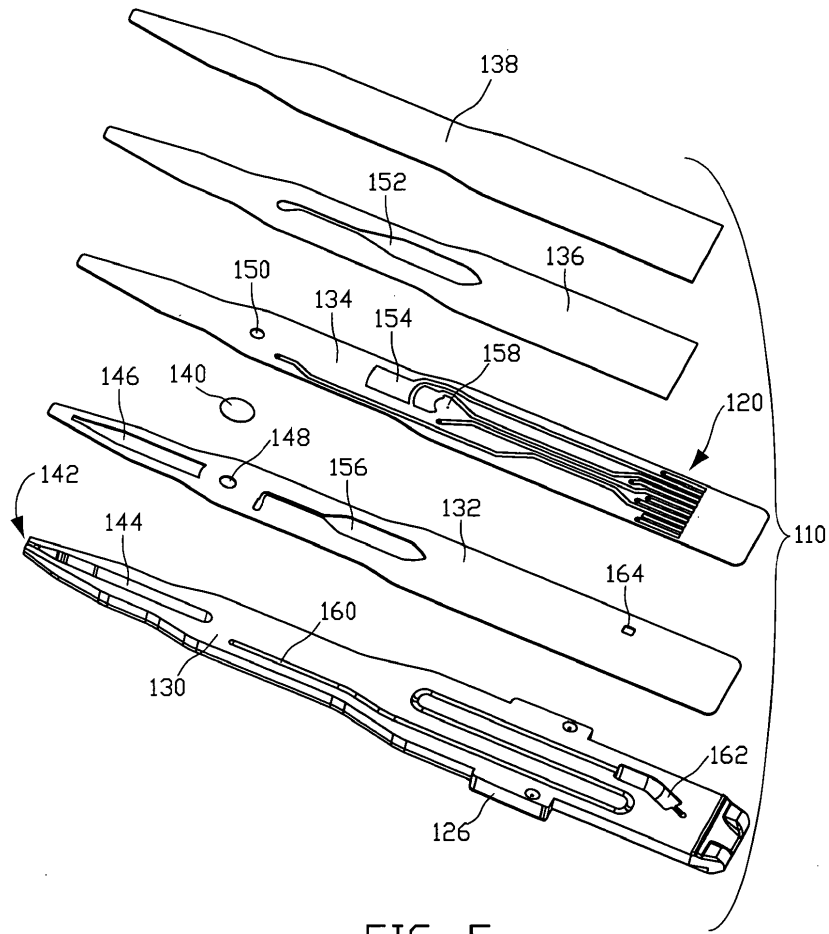


FIG. 5

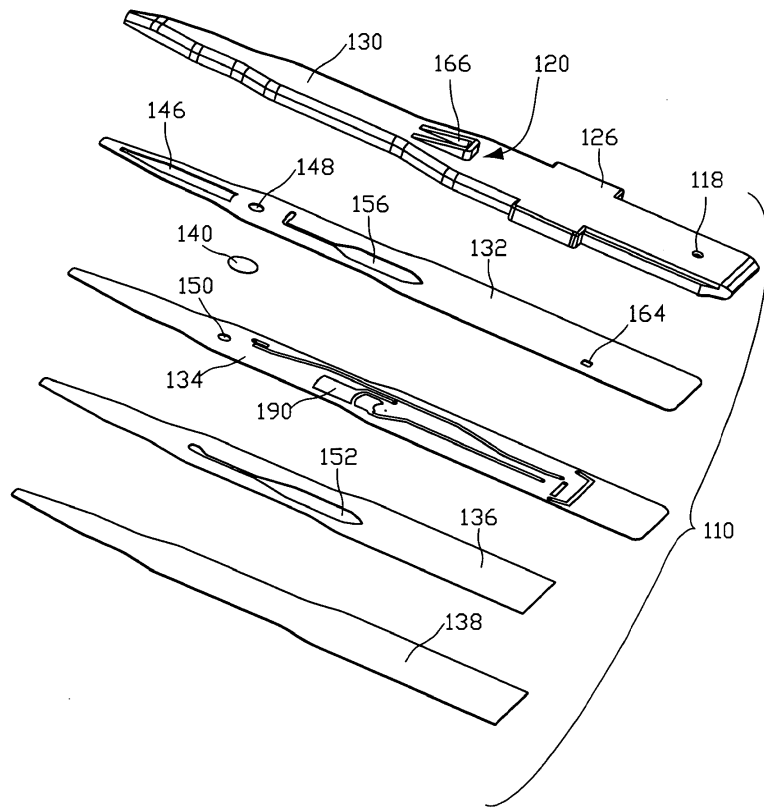


FIG. 6

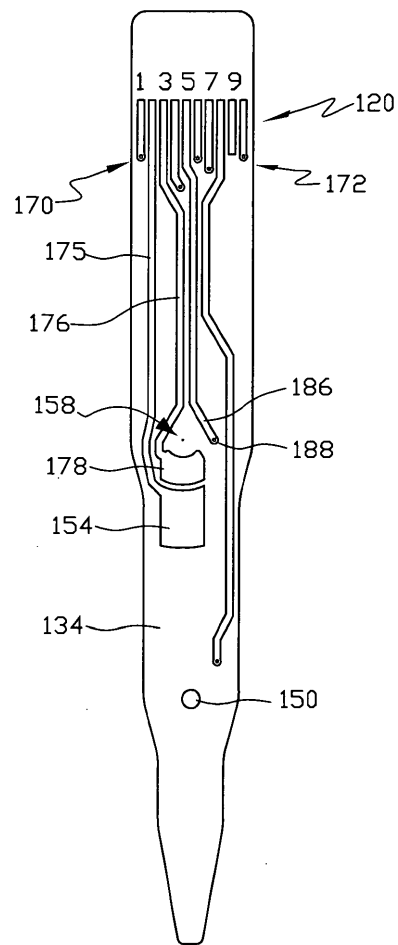


FIG. 7

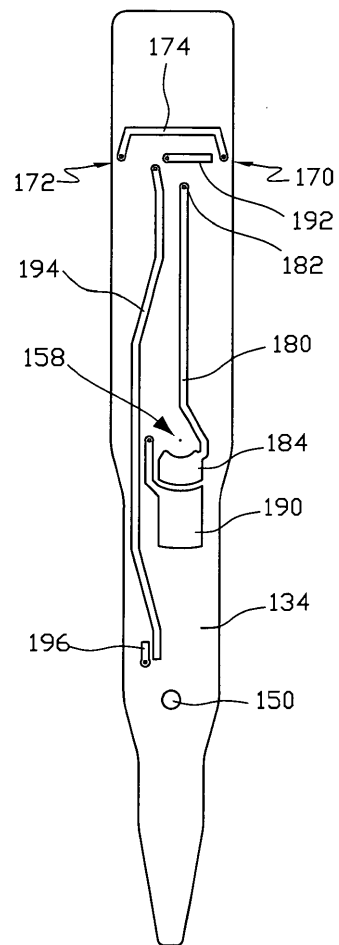


FIG. 8

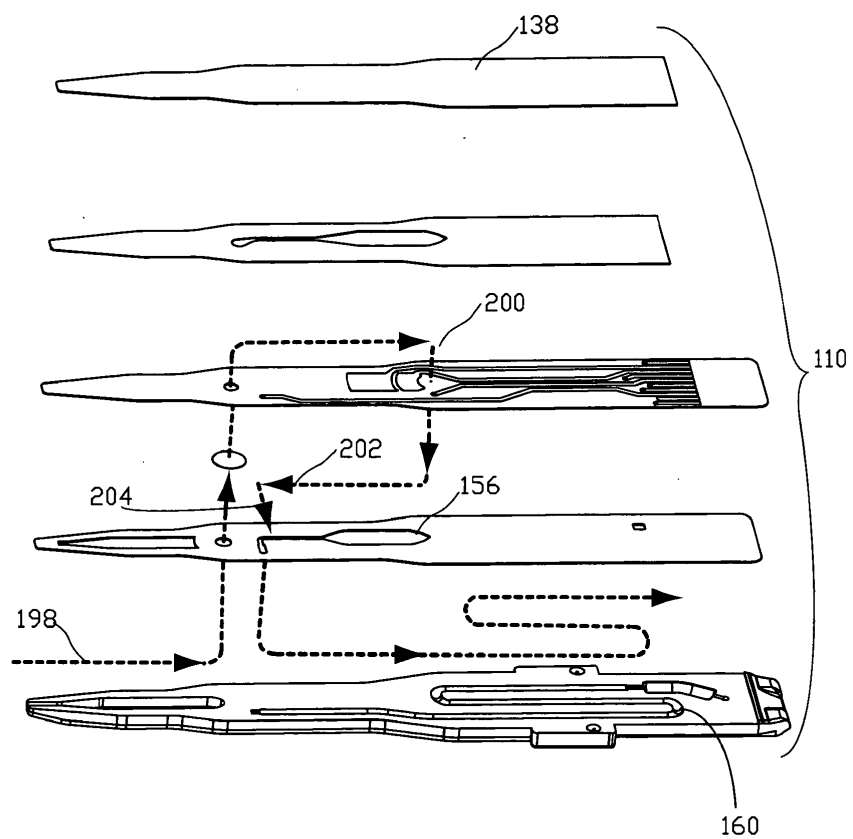


FIG. 9

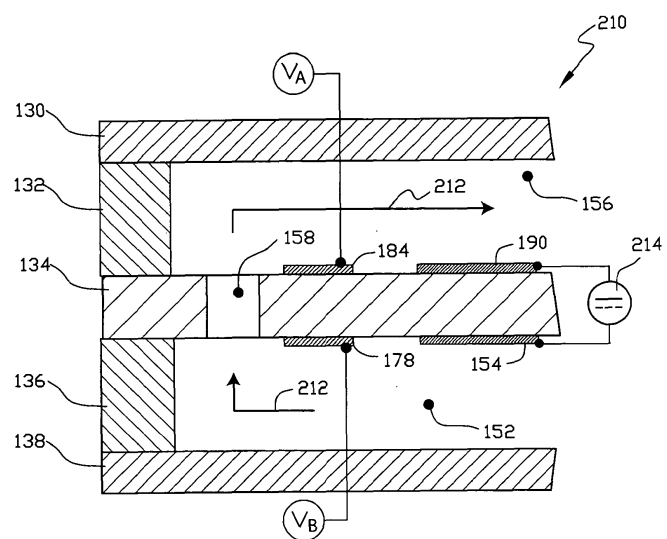


FIG. 10

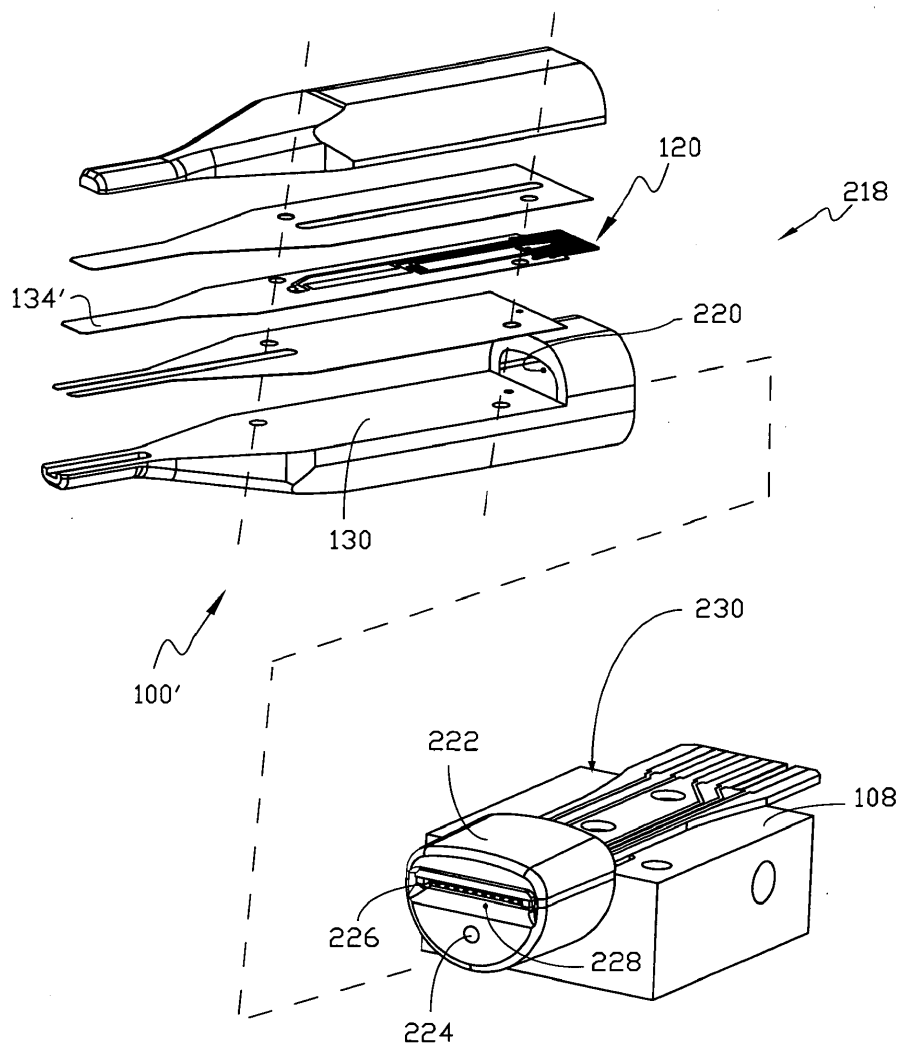


FIG. 11

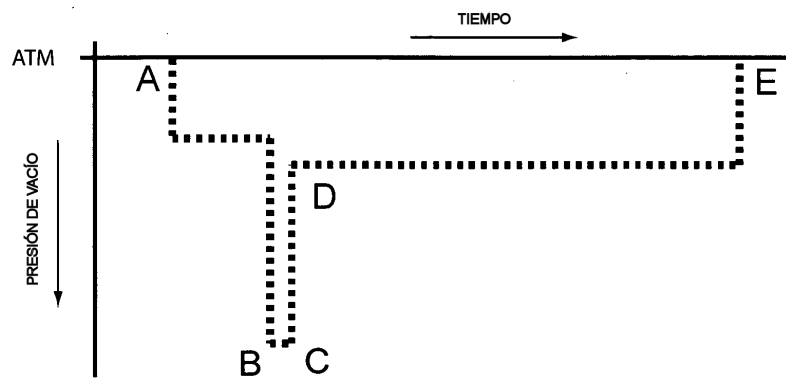


FIG. 12