

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 889**

51 Int. Cl.:

**G01N 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2009** E 13179475 (2)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017** EP 2662693

54 Título: **Centrifugación de centrifugado dividido de elementos de prueba**

30 Prioridad:

**02.05.2008 US 114375**

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

**15.02.2018**

73 Titular/es:

**ORTHO CLINICAL DIAGNOSTICS INC. (100.0%)  
100 Indigo Creek Drive  
Rochester, New York 14626-5101**

72 Inventor/es:

**DEE, MICHAEL L.;  
MORAN, DONALD J. JR;  
SAWCZUK, MARK;  
ATTERBURY, WILLIAM G.;  
MARSHALL, MICHAEL L. y  
BOYD, DOUGLAS E.**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 2 654 889 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).

**Centrifugación de centrifugado dividido de elementos de prueba****Descripción**

## 5 CAMPO DE LA SOLICITUD

La solicitud se refiere a un aparato y un método para la centrifugación de alto rendimiento de muestras de ensayo.

## 10 FONDO

La técnica de tecnología de aglutinación de columna (TAC) emplea una matriz inerte y los reactivos para la aglutinación con la filtración de aglutinados formados por centrifugación proporcionando un medio visual indicativo para determinar si se ha producido una reacción y si es así, el grado de la reacción. Tras su invención en la década de 1980 por La-Pierre y asociados, las pruebas que utilizan la tecnología TAC son ampliamente utilizadas en las instituciones de salud para la prueba rápida y fiable de las muestras de sangre. Típicamente, las pruebas de TAC comprenden un elemento de ensayo de inmunodiagnóstico, tales como "casete de grano" o "carta de gel" con un número de microtubos, cada uno que contiene una mezcla de partículas de gel de acrilamida de dextrano y reactivos adecuados para realizar un ensayo de tipo aglutinación. Por ejemplo, en el ensayo de la directa Coomb, suspensión de glóbulos rojos de un paciente se añade primero a cada microtubo y después de una incubación apropiada con suero de globulina anti-humano (reactivo de Coombs), se centrifuga la carta. Los resultados del ensayo se pueden entonces simplemente "leer" de la carta.

En los últimos años, TAC ha sido simplificado con la introducción de plataformas integrales que utilizan una variedad de diferentes tipos de alojamiento de muestras que permiten que se observen reacciones de aglutinación visibles. Por ejemplo, una tal plataforma es el ID-Micro Typing System® (Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.) que se utiliza comúnmente para la determinación del grupo sanguíneo, rastreo de anticuerpos, identificación de anticuerpos, fenotipificación, y pruebas cruzadas de sangre. Debido a que el ID-Micro Typing System Gel Test® requiere menos pasos de procedimiento, es más fácil de realizar y más rentable que otros métodos serológicos. La manipulación reducida también se traduce en un menor número de operadores salvo error inducido y una interpretación más objetiva de los resultados.

A pesar de estas mejoras, un importante cuello de botella para el procesamiento de cartas de gel o elementos de prueba similares en plataformas de inmunohematología actuales, tales como el ID-Micro Typing System® sigue siendo la centrifuga, que es programada para funcionar continuamente para cada "lote" cargado en el sistema, sin interrupción, hasta que se haya completado el giro de lote.

La información relevante para los intentos de abordar este problema se puede encontrar en la Patente de Estados Unidos N° 7.151.973; 7.127.310; 7.072.732; 7.069.097; 6.606.529; 6.490.566; 5.890.134; 5.865.718; 5.826.236; 5.737.728; 5.260.868 y la Publicación de Estados Unidos N° US 2005/0004828; US 2004/0074825 y US 2003/0064872. Cada una de estas referencias sufre, sin embargo, de una o más de las siguientes desventajas: las referencias fallan para remediar la etapa de centrifugación limitante de la velocidad y también fallan para describir un procedimiento que podría mejorar la eficiencia global de la centrifugación por lotes. GB2359772 divulga un método de centrifugación por lo que la centrifugación se detuvo para insertar o retirar muestras. US5814276 describe un método de centrifugación en la que se utiliza una pluralidad de centrifugadoras. Cada centrifugadora se inicia cuando se carga totalmente.

Por las razones precedentes, existe una necesidad no satisfecha en la técnica para mejorar el rendimiento de los protocolos de centrifugación por lotes.

## 50 RESUMEN DE LA SOLICITUD

La invención es un método para realizar la centrifugación de alto rendimiento de un lote de muestras, de acuerdo con la reivindicación 1.

## 55 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

60 FIG. 1 ilustra un protocolo para la centrifugación de alto rendimiento de lotes de muestras de acuerdo con una primera realización;

FIG. 2 ilustra un protocolo para la centrifugación de alto rendimiento de una pluralidad de lotes de muestras de acuerdo con un ejemplo que no forma parte de la presente invención;

FIG. 3 representa una vista en planta de una estación de trabajo que es capaz de emplear un protocolo de centrifugación de alto rendimiento; y

65 FIG. 4 ilustra un protocolo para la centrifugación de alto rendimiento de lotes de muestras de acuerdo con un ejemplo que no forma parte de la presente invención, para su uso en la estación de trabajo de la Fig. 3;

La Figura 5 ilustra un protocolo para la centrifugación de alto rendimiento de una pluralidad de lotes de muestras de acuerdo con un ejemplo que no forma parte de la presente invención.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

5

## DEFINICIONES

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados aquí tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la técnica. Las definiciones siguientes se proporcionan para ayudar a interpretar la descripción y reivindicaciones de esta solicitud. En el caso de que una definición en esta sección no sea consistente con las definiciones en otros lugares, controlará la definición expuesta en esta sección.

El término "pluralidad", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de dos o más.

Tal como se usa en este documento, "lote" se refiere a un grupo de dos o más entidades, por ejemplo, dos o más receptáculos o muestras.

"Aglutinación", como se usa en el presente documento, se refiere a la aglutinación de una suspensión de antígeno celular o de partículas por un reactivo, generalmente un anticuerpo u otra entidad de unión a ligando (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nos 4,305,721, 5,650,068 y 5,552,064). En otra realización, el término "aglutinación" se refiere a la hemaglutinación es decir, la aglutinación de glóbulos rojos. Hemaglutinación se puede utilizar para identificar antígenos de superficie de glóbulos rojos (con anticuerpos conocidos) o para la detección de anticuerpos (con células rojas de la sangre que expresan antígenos de superficie conocidos).

El término "partícula", como se usa en el presente documento, puede ser cualquier partícula usada en ensayos de aglutinación a la que se puede acoplar un ligando o molécula de unión a ligando. Las partículas pueden ser células, por ejemplo, bacterias o células rojas de la sangre o células blancas de la sangre o sólidos inertes microscópicos hechos de, por ejemplo, látex, aunque otros tipos de partículas a las que un ligando puede estar acoplado también están incluidos dentro del alcance de la invención. Estas partículas inertes se pueden comprender de cualquier material adecuado, tal como vidrio o cerámica, carbono o plástico y/o uno o más polímeros, tales como, por ejemplo, nylon, politetrafluoroetileno (Teflon™) o polímeros de estireno-divinilbenceno, o gel tal como acrilamida de dextrano o sefarosa. El tamaño de partícula puede ser de aproximadamente 0,1 micras a 1000 micras. Preferiblemente, el tamaño de partícula es de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 micras.

Como se usa en este documento, un "ligando" es cualquier molécula que es capaz de unirse a una molécula de unión a ligando. En otra forma de realización preferida, el ligando está expuesto en la superficie de un analito como se define aquí. En una realización, el ligando es un epítipo de un anticuerpo. Por ejemplo, el ligando puede ser un componente de un virus, bacteria o parásito. Un ligando puede ser un antígeno de superficie en una célula tal como un glóbulo rojo. Un número de ligandos también se sabe que las moléculas se unen inmunoglobulinas y puede estar acoplado de forma covalente a las partículas usadas en esta aplicación, por ejemplo proteína A, proteína G, proteína A/G y KappaLock™ (véase también la Patente de Estados Unidos N° 5.665.558). El ligando puede unirse al isotipo del anticuerpo que se usa o se ensaya o, alternativamente, se puede utilizar un anticuerpo de puente, por ejemplo, una anti-IgM IgG, para un anticuerpo IgM. Por lo tanto, un anticuerpo anti-IgM IgG se acoplaría al ligando como un "puente" y un anticuerpo IgM que se una al anticuerpo anti-IgM IgG.

El término "ligando de unión", como se usa en el presente documento, se refiere a un miembro de un par de unión, es decir, dos moléculas diferentes donde una de las moléculas se une específicamente a la segunda molécula a través de medios químicos o físicos. Además de miembros pares antígeno y de unión a anticuerpos, otros pares de unión incluyen, como ejemplos sin limitación, biotina y avidina, carbohidratos y lectinas, secuencias de nucleótidos complementarias, secuencias de péptidos complementarias, efectoras y moléculas receptoras, cofactores enzimáticos y enzimas, inhibidores enzimáticos y enzimas, una secuencia peptídica y un anticuerpo específico para la secuencia o la proteína completa, ácidos y bases poliméricas, colorantes y aglutinantes proteicos, péptidos y aglutinantes proteicos específicos (por ejemplo, ribonucleasa, S-péptido y ribonucleasa S-proteína), y similares. Además, los pares de unión pueden incluir miembros que son análogos del miembro de unión original, por ejemplo, un analito análogo o un miembro de unión hecho por técnicas recombinantes o ingeniería molecular. Si el miembro de unión es un inmunorreactivo puede ser, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal o policlonal, una proteína recombinante o anticuerpo recombinante, un anticuerpo quimérico, una mezcla o fragmento de los anteriores, así como una preparación de tales anticuerpos, péptidos y nucleótidos cuya idoneidad para uso como miembros de unión es bien conocida por los expertos en la técnica. Un miembro de unión a ligando puede ser un ligando de afinidad polipéptido (véase, por ejemplo, Patente de EE.UU. N° 6.326.155). En una realización, el miembro de unión a ligando está marcado. La etiqueta puede ser seleccionada de un marcador fluorescente, un marcador quimioluminiscente o una etiqueta bioluminiscente, un constructo de enzima-anticuerpo u otros marcadores adecuados similares conocidos en la técnica.

Como se usa en el presente documento, el término "muestra" se refiere a un material sospechoso de contener al menos un analito. La muestra se puede utilizar directamente como se obtiene de la fuente o después de

un pretratamiento para modificar el carácter de la muestra. La muestra puede derivarse de cualquier fuente biológica, tal como un fluido fisiológico, incluyendo, sangre, saliva, fluido de la lente ocular, fluido espinal cerebral, sudor, orina, leche, fluido ascítico, fluido estridente, sinovial, líquido peritoneal, líquido amniótico o similares. La muestra puede ser pretratada antes de su uso, tales como la preparación de plasma a partir de sangre, diluyendo fluidos viscosos, o similares; métodos de tratamiento pueden implicar filtración, destilación, concentración, la inactivación de componentes interferentes, y la adición de reactivos. Además de fluidos fisiológicos, otras muestras líquidas pueden ser utilizadas. Además, un material sólido sospechoso de contener un analito puede ser utilizado como la muestra. En algunos casos puede ser beneficioso modificar una muestra sólida para formar un medio líquido o para liberar el analito.

El término "analito", como se usa en el presente documento, se refiere al compuesto o composición a ser detectada o medida, y que tiene al menos un epítipo o sitio de unión o ligando. El analito puede ser cualquier sustancia para la que existe un miembro de unión natural o para la que un miembro de unión se puede preparar. Los analitos incluyen, pero no se limitan a, toxinas, compuestos orgánicos, proteínas, péptidos, microorganismos (bacterias, virus o parásitos y similares), aminoácidos, ácidos nucleicos, hormonas, esteroides, vitaminas, drogas, partículas de virus y metabolitos o anticuerpos para cualquiera de las sustancias anteriores. El término "analito" también incluye cualesquiera sustancias antigénicas, haptenos, anticuerpos, macromoléculas y combinaciones de los mismos. En una realización, el analito es un antígeno de superficie celular. En otra realización, el analito es un antígeno de superficie de un glóbulo rojo.

Como se usa en el presente documento "sangre" incluye ampliamente sangre entera o cualquier componente de sangre entera, tales como las células rojas de la sangre, plasma o suero.

Como se usa en el presente documento, "células rojas de la sangre" (GR) utilizadas en la aplicación pueden ser aisladas de la sangre entera por centrifugación o a través de un gradiente de densidad tal como un gradiente de Ficoll.

Como se usa en este documento, "centrifugación" se refiere a la rotación de un objeto alrededor de un eje de rotación.

Como se usa en este documento, un "elemento de ensayo" o "elemento de prueba inmunodiagnóstico" se refiere a cualquier receptáculo para realizar una reacción de aglutinación de partículas que requiere una etapa de centrifugación. En una realización, un elemento de ensayo es una carta de casete de perlas o gel. Preferiblemente, el grado de aglutinación de partículas dentro de un elemento de prueba puede determinarse usando un detector o visualmente.

Como se usa en el presente documento, "casete de grano" se refiere a un conjunto de uno o más recipientes, típicamente en una carta, que están llenos de perlas para realizar un ensayo de aglutinación que requiere una etapa de centrifugación. En una realización, el casete comprende uno o más microtubos.

Como se usa en el presente documento, una "carta de gel" se refiere a un elemento de prueba con dos o más microtubos. En una realización, la carta de gel es una carta de gel ID-Micro Typing System®. Tales cartas miden aproximadamente 2,0 x 2,75 pulgadas y típicamente contienen hasta 6 microtubos, cada uno pre-llenado con un gel para aglutinar los glóbulos rojos presentes en una muestra. Una descripción más detallada se puede encontrar en la Patente de los Estados Unidos N<sup>os</sup> 5.650.068 y 5.552.064.

Tal como se utiliza aquí, el término "perla" se refiere a un sólido discreto que puede ser esférico (por ejemplo, microesferas) o tienen una forma irregular. Perlas pueden ser tan pequeñas como aproximadamente 0,1 mm de diámetro o tan grande como aproximadamente varios milímetros de diámetro. Perlas pueden comprender una variedad de materiales incluyendo, pero no limitado a cerámica, plástico, vidrio, poliestireno, metilestireno, polímeros acrílicos, acrilamida de dextrano, sefarosa, celulosa y similares.

Tal como se utiliza aquí, el término "escalonada" se refiere a la operación de dos o más centrifugadoras, donde el ciclo de centrifugación de una centrifuga se solapa con una parte del ciclo de la centrifugación de cada una de las otras centrifugadoras.

Como se usa en este documento, los números "x", "y", "z" y "t", se refieren a números enteros.

El término "frecuencia", como se usa aquí, se refiere a la frecuencia con que una centrífuga se convierte en disponible para la carga o descarga de los recipientes de muestra.

El término "receptáculo de muestra", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier recipiente que se pueden centrifugar. Por ejemplo, un receptáculo de la muestra puede ser un tubo, una placa de microtitulación, una columna o un casete de talón. El receptáculo de muestra puede ser de plástico o de vidrio o cualquier otro material que puede centrifugarse sin deformar su forma. En otra realización, el receptáculo de la muestra está hecha de un material inerte que no promueve la adherencia de una muestra biológica a las paredes

internas del recipiente de la muestra. En una realización ejemplar, el receptáculo de muestra está hecho de acrílico o polipropileno. En aún otra realización ejemplar, el receptáculo de la muestra es un casete de carta de gel o perla que contiene uno o más microtubos. En aún otra realización, las paredes del receptáculo de muestra son transparentes y pueden transmitir la radiación electromagnética de una longitud de onda de 200 nm a 700 nm.

Como se usa en el presente documento, "detector" se refiere a un mecanismo del aparato para la detección de aglutinación de partículas, típicamente un fotodetector (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 5.256.376 y la solicitud de patente estadounidense publicada de US 2004/0166551). En una realización, el aparato puede detectar bioluminescencia o quimioluminiscencia o fluorescencia. En otra realización, el detector es un generador de imágenes.

Como se usa en este documento, un "mecanismo de control" se refiere a uno o más ordenadores y el hardware y el software asociado que supervisan y controlan varios aspectos del aparato de ensayo, incluyendo, pero no limitado a, uno o más mecanismos de accionamiento, uno o más detectores, uno o más lectores y uno o más mecanismos de transferencia. En un aspecto, el ordenador proporciona una o más unidades de disco duro o hardware equivalente para el almacenamiento cifrado de la información del paciente. En otro aspecto, el ordenador está conectado a la red de área local (LAN) en el centro de atención médica por capacidades de conexión alámbrica estándar o inalámbrica. En otro aspecto, el ordenador proporciona software para el análisis exhaustivo de los resultados y asocia esta información con el registro del paciente almacenado y el código de barras designado. En otro aspecto, el "mecanismo de control" es proporcionado por un ordenador de sobremesa fijo o un ordenador portátil. El ordenador puede estar conectado en red a una impresora local.

Como se usa en este documento, un "mecanismo de transferencia" se refiere a cualquier medio de transporte de recipientes de muestras dentro del aparato y puede incluir brazos robóticos, pinzas, cintas transportadoras y similares para mover muestras y los recipientes de muestra de un lugar a otro. Por ejemplo, los mecanismos de transferencia tales como uno o más brazos robóticos pueden mover uno o más receptáculos de muestra de un lector de código de barras a una o más centrifugadoras o de una o más centrifugadoras a uno o más detectores.

Como se usa en el presente documento, una "incubadora" es un aparato que aumenta o disminuye la temperatura de una muestra. En una realización, la incubadora calienta una muestra a 37 grados Celsius.

Como se usa en este documento, "STAT" es un término médico derivado de la palabra latina "statim", que significa inmediatamente. Un "carril STAT", por tanto, se refiere al tratamiento urgente o rápido de muestras de pacientes.

Como se usa en este documento, "muestra de emergencia" se refiere a cualquier muestra que requiere procesamiento inmediato. Muestras de emergencia típicamente incluyen aquellas muestras recogidas en las salas de emergencia u otros centros de atención de urgencia. Por ejemplo, una muestra de sala de emergencia puede ser una muestra de sangre tomada de un paciente en una sala de emergencia que debe ser escrita rápidamente antes de administrarse una transfusión de sangre para el paciente.

Como se usa en el presente documento, "reactivos para la aglutinación de partículas" se refieren a cualquier compuesto que se requiere para que se produzca una reacción de aglutinación. Por ejemplo, los reactivos incluyen, pero no se limitan a, tampones, ligandos, moléculas de unión a ligando y las partículas asociadas tal como se define en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, "reactivos para la tipificación de la sangre" se refieren a aquellos reactivos que requieren tipificación de la sangre tales como la prueba de Coomb directa o indirecta o ensayo equivalente para determinar el grupo sanguíneo o muestra de sangre. Por ejemplo, un reactivo para la tipificación de la sangre puede ser reactivo de Coombs es decir, una preparación de anticuerpos, criados en animales, dirigidos contra una de las siguientes inmunoglobulina humana, complemento o una inmunoglobulina específica por ejemplo, IgG anti-humano para uso en la prueba de Coombs.

Tal como se utiliza aquí, el término "anticuerpo" incluye anticuerpos tanto policlonales como monoclonales; y puede ser una molécula intacta, un fragmento de la misma (tales como Fv, Fd, Fab, Fab' y F(ab)'<sub>2</sub> de fragmentos, o multímeros o agregados de moléculas y/o fragmentos intactos; y puede ocurrir en la naturaleza o ser producido, por ejemplo, por inmunización, síntesis o ingeniería genética. El anticuerpo o antígeno usado en el presente documento es dependiente de anticuerpo o antígeno que se está ensayando. Por ejemplo, el número de antígenos de grupo sanguíneo y por lo tanto, el número de anticuerpos para estos antígenos que han sido identificados es muy grande, determinándose continuamente más antígenos y anticuerpos. La Sociedad Internacional de Transfusiones de Sangre ha publicado una lista no exhaustiva de antígenos de células rojas en Blood Group Terminology 1990, Vox. Sang. 58 : 152-169 (1990 e incluye, pero no se limita a, los anticuerpos y los antígenos A, B, D, C, c, Cw, E, e, K, Fya, Fyb, Jka, Jkb, S y s.

Como se usa en este documento, "para evaluar un resultado" se refiere a la determinación de cualquiera de

un ensayo positivo o negativo en cada elemento de ensayo. En una realización, el elemento de prueba, tal como un casete de talón o carta de gel, contiene uno o más ensayos de tipo de aglutinación de columna. Por ejemplo, la presencia de aglutinación indica un resultado positivo, mientras que la ausencia de aglutinación se interpreta como un resultado negativo. En otra realización, en la conclusión de cada giro discreto, los elementos de prueba son fotografiados para el análisis por el software de análisis de imagen. Si el equipo puede determinar con precisión los resultados, es decir, la presencia o ausencia de aglutinación, los resultados pueden ser registrados y los elementos de prueba retirados de la centrifugadora mediante el aumento del rendimiento global del instrumento.

La siguiente descripción se refiere a ciertas realizaciones preferidas de la aplicación, y a una metodología particular para la centrifugación de lote de elementos de prueba. Como será fácilmente evidente a partir de la discusión, los conceptos inventivos descritos en este documento son ampliamente aplicables a cualquier procedimiento de centrifugación donde grandes lotes de muestras necesitan ser procesados con el máximo rendimiento.

En una realización, el protocolo de centrifugación descrito en este documento se usa para procesar ensayos de tipo de aglutinación de partículas dentro de una estación de trabajo tales como el AutoVue® (Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.) o plataformas similares para el análisis de sangre. Plataformas de análisis de sangre suelen utilizar una carta de gel o un casete de talón. En el caso de cartas de gel, este elemento de prueba incluye microtubos que se predispensan de una mezcla de partículas de gel y reactivos para la aglutinación de partículas, tales como suero de globulina anti-humano (reactivo de Coombs) y diluyente. Se añade una cantidad medida de la suspensión de eritrocitos deseada a partir de un paciente, típicamente de unos pocos microlitros, primero a cada microtubo dentro de una carta de gel y se incubó a 37°C durante un tiempo predeterminado, típicamente unos pocos minutos, antes de centrifugarse. Después de la centrifugación, los resultados de la prueba se leen y se clasifican de acuerdo con el grado de aglutinación. Si se produce aglutinación, aglutinados de glóbulos rojos están atrapados en la suspensión de gel durante la centrifugación. Grandes aglutinados se inmovilizan hacia la parte superior de la columna de gel, mientras que los aglutinados más pequeños están atrapados más abajo en la columna de gel. Glóbulos rojos con ningún anticuerpo unido se empujan a través de las partículas de gel durante la centrifugación y se depositan como un sedimento en la punta de microtubo en la parte inferior del tubo. Una ventaja importante del procedimiento es que se evita la necesidad de lavado de células. Controles positivos y negativos apropiados también pueden añadirse según sea necesario. Como se ha mencionado anteriormente, la etapa de centrifugación es limitante de la velocidad en que la carga y descarga de muestras sólo pueden ocurrir una vez que se ha completado la ejecución de la centrifugación.

El nuevo protocolo de centrifugación escisión-giro, descrito en esta solicitud, propone un régimen que incrementa la disponibilidad de centrifugadoras y reduce el tiempo de carga para dar como resultado el análisis.

Haciendo referencia a la FIG. 1, el diagrama 100 representa una serie de protocolos de centrifugación y el tiempo requerido para cada etapa de la centrifugación. El protocolo de centrifugación único ininterrumpido 110 de, por ejemplo, 24 elementos de prueba que están dispuestos dentro de una sola centrífuga dedicada se representa a lo largo de una escala de tiempo a partir de tiempo 145 y completando el ciclo en el tiempo 140, como se muestra por el bloque 135, 10 minutos después. De acuerdo con este protocolo estándar 110, la centrífuga sólo se convierte en disponible para la carga y descarga cada 10 minutos es decir, en la conclusión del ciclo.

De acuerdo con una primera forma de realización, se proporcionan protocolos de centrifugación 115 y 120 separados en los que el lote de 24 elementos de ensayo de la FIG. 1 se divide en dos (2) lotes más pequeños de 12 cartas cada uno. Los lotes más pequeños de 12 elementos de ensayo se centrifugan en dos centrifugadoras independientes que operan para la mitad del tiempo que el protocolo 110 (es decir, 5 minutos), como se muestra por la flecha 130, y en una configuración escalonada con respecto a la otra.

Más específicamente, y por primera centrífuga, el ciclo 115 se inicia en el tiempo 165 y se detiene cinco minutos más tarde en el tiempo 170. Después de un periodo 150 para la carga y recarga de elementos de prueba adicionales, un segundo ciclo se inicia con la primera centrífuga a partir de tiempo 175 y parar 5 minutos más tarde en el tiempo 180.

Mientras tanto y conforme al protocolo escalonado 120 para la segunda centrífuga, el ciclo comienza en el momento 185 y termina 5 minutos más tarde en el tiempo 192, que es de 2,5 minutos más tarde que el tiempo 175 de la primera centrifugadora. Después de otro periodo 150 para la carga y recarga de elementos de prueba adicionales, un segundo ciclo comienza en el tiempo 195 y procede por otros 5 minutos de terminación de 2,5 minutos más tarde que el tiempo 180.

Por escalonamiento de la operación de la primera y segunda centrifugadoras por, en este ejemplo, 2,5 minutos, como se muestra en 125, se hace evidente que la disponibilidad de ranuras de centrífuga se incrementa significativamente debido a que una centrífuga se convierte en disponible para la carga o descarga cada 2,5 minutos es decir, en tiempos de 190, 170, 192 y 180 en vez de cada 10 minutos como se muestra en el protocolo estándar 110. La figura 1 ilustra cómo por lo tanto, el dividir un lote de muestras por dos y proporcionar dos centrifugas, la frecuencia de carga/descarga de una centrífuga se incrementa hasta cuatro veces dependiendo de la hora 150 que

se toma para cargar y/o recargar cada centrífuga.

Una persona de experiencia ordinaria en la técnica reconocerá que la realización descrita puede ser modificada en un número de maneras y todavía caen dentro del alcance previsto de la aplicación y el lote inicial de las muestras se puede dividir en cualquier número pre-determinado de varios lotes más pequeños. Por ejemplo, como se describe de manera ejemplar con respecto a las FIGS. 2-4, el método descrito en el presente documento pueden usarse con más de dos centrifugadoras.

En primer lugar y haciendo referencia a la figura 2, el diagrama 200 representa un protocolo de centrifugación de división-giro utilizando múltiples centrifugadoras y múltiples lotes de muestras. De acuerdo con este ejemplo, no forma parte de la presente invención, el ciclo 210 representa el protocolo de centrifugación estándar para un único lote de muestras que necesitan centrifugación durante un período de tiempo 270 igual a número  $t$  de segundos. Al dividir el lote original de muestras en número  $x$  de minilotes, como se representa en la FIG. 2 por las flechas 265, cada minilote se puede cargar en número y de centrífugas, cuyos ciclos se representan por las flechas 260, para un período de tiempo 275 igual a segundos  $t/x$ , que corresponde al tiempo requerido para cada ejecución de la centrifugación a partir de un tiempo 222 y termina en un tiempo 217. El período de tiempo 285 necesario para cargar o descargar cada uno de los minilotes es igual a segundos  $z$ . Mediante el escalonamiento de la operación de cada centrifugadora por período de 280, igual a segundos  $t/xy$ , como se muestra por los ciclos 215, 220 y 230, la frecuencia de carga y descarga de una centrífuga se puede aumentar hasta en  $xy$  veces en comparación con la frecuencia de carga y descarga de una sola centrífuga en el ciclo 210 que contiene el único lote original de muestras y en funcionamiento para el período 270 igual a número  $t$  de segundos.

El protocolo de división-giro descrito en este documento proporciona una oportunidad para evaluar cada receptáculo de muestra para un resultado después de cada giro discreto de  $t/x$  segundos. Receptáculos de muestra, tales como cartas de gel que ya son identificables como negativa o positiva puede tener el resultado registrado y se retira de la centrífuga sin la necesidad de proceder con el tiempo de giro restante de  $t - t/x$  segundos. Esta capacidad reduce el tiempo para dar resultado y liberar espacios disponibles dentro de cada una de las centrifugadoras aumentando así aún más el rendimiento general del protocolo de centrifugación de división-giro.

Una persona de experiencia ordinaria en la técnica reconocerá que el protocolo de centrifugación descrito puede ser modificado convenientemente para incluir un protocolo de división-giro aleatorio en el que la centrifugación de un lote de elementos de prueba puede ser 'dividirse' aleatoriamente en potencialmente cualquier número de giros de centrifugación más pequeña de duración variable.

Haciendo referencia a la figura 5, el diagrama 500 representa un protocolo de centrifugación de división-giro al azar, que no forma parte de la presente invención, utilizando múltiples centrifugadoras y múltiples lotes de muestras. El ciclo S10 representa un protocolo de centrifugación estándar en el que uno o más lotes de elementos de ensayo se centrifugan durante un período de tiempo 570. De acuerdo a un protocolo de centrifugación de división-giro al azar, uno o más lotes primarios de elementos de prueba se distribuyen primero entre una o más centrifugadoras como se representa en 560. Tan pronto como se inicia la centrifugación, las centrifugadoras son seleccionadas al azar para hacer una pausa durante un período de tiempo 585 permitiendo de este modo la carga o descarga de elementos de ensayo de acuerdo a si o no los elementos de prueba han completado el tiempo de centrifugación pre-determinado asignado a la muestra particular. Por ejemplo, en el protocolo 515, se muestra que la centrífuga empieza a 545 y para a 550 es decir, 4 veces en el período de tiempo 570. En otro ejemplo, el protocolo 520, una segunda centrífuga se detiene en 545 y se inicia en 550 para un total de 3 veces durante el período de tiempo 570.

Una persona de habilidad ordinaria volverá a reconocer que el protocolo de división-giro aleatorio permite aud un giro de la centrifugación se detenga al azar para la descarga o recarga de elementos de ensayo, lo que aumenta el rendimiento de la centrifugación. Por ejemplo, la centrifugación de uno o más lotes primarios de elementos de ensayo puede ser seleccionada al azar para hacer una pausa durante un período de tiempo 585. De acuerdo con este escenario, representado en el protocolo 525, un período de tiempo de centrifugación 570 se divide aleatoriamente en cualquier número 590 de giros discretos 565 de duración variable 575. Por lo tanto, la frecuencia de carga y descarga de una centrífuga teniendo un protocolo de centrifugación de división-giro aleatoria puede incrementarse en comparación con la frecuencia de carga y descarga de una sola centrífuga en el ciclo 510 que contiene un único lote de muestras y en funcionamiento para el período de tiempo 570. El número de roturas en un protocolo de centrifugación de división-giro al azar puede ser sólo limitado por el rendimiento total.

En otra realización, cada elemento de prueba se evalúa para un resultado después de cada giro discreto, es decir, en este ejemplo, en puntos de tiempo 550. Elementos de prueba determinados a ser negativos o positivos pueden grabar o retirar el resultado de la centrífuga sin la necesidad de proceder con el tiempo de giro restante. Esta capacidad reduce aún más el tiempo para dar resultado y liberar ranuras disponibles dentro de cada una de las centrifugadoras aumentando así aún más el rendimiento global.

Para los fines de empleo de un protocolo de centrifugación como se describe en el presente documento, se proporciona un aparato ejemplar. Más específicamente, se describe una estación de trabajo para la determinación

del grupo sanguíneo para la centrifugación de división-giro. Haciendo referencia a la FIG. 3, la estación de trabajo 300 incluye un ordenador dedicado 355 con el software adecuado para el almacenamiento y análisis de resultados experimentales sin intervención humana. Los medios de ordenador de la estación de trabajo 300 incluye preferentemente un microprocesador, un teclado 375 u otro dispositivo de entrada para la programación del microprocesador, memoria y almacenamiento de datos, así como medios de conexión 395. Se proporciona etroalimentación para proporcionar el microprocesador con la información de posición de receptáculos de paciente contenido y equipos en la estación de trabajo 300 de modo continuo. Registros de pacientes y resultados de las pruebas pueden ser monitoreados de modo remoto en tiempo real. Una descripción ejemplar de sistemas de procesamiento de muestra de sangre se enseña en mayor detalle en la Patente de Estados Unidos N° 5,81 4,276.

En funcionamiento, el personal de laboratorio carga viales que contienen muestras de sangre de pacientes en bastidores de muestra vacía 380 en una estación de carga 325. Los bastidores 398 son transportados por medio de una cinta transportadora de bastidor 365 a una estación de pipeteado 320, donde una alícuota de la muestras de sangre se aspira automáticamente desde los viales de muestra y se cargan en un elemento de prueba, tales como las cartas en el presente documento se describe gel y/o cassettes de perlas, para hemaglutinación. Cada elemento de prueba está preferentemente pre-marcado con un código de barras único que identifica el elemento de información específica, incluyendo, pero no limitado a número de lote, fecha de caducidad, fecha de fabricación y otra información pertinente. Una cinta transportadora 315 transporta los elementos de prueba 370 más allá de un lector de código de barras 310. El ordenador 355 puede asociar el código de barras con el registro de un paciente. La cinta transportadora transporta los elementos de ensayo 370 a través de una incubadora 330 que se mantiene a una temperatura de 37 grados Celsius. La forma de la incubadora utilizada no es necesariamente crítica siempre que se pueda acomodar elementos de ensayo adecuadamente. Después de viajar a través de la incubadora 330, un brazo robótico 340 a continuación, carga los elementos de prueba en cualquiera de las cuatro centrifugadoras disponibles 350 que están dispuestas en relación adyacente entre sí.

El programa de inicio-parada de las centrifugadoras y mecanismos de accionamiento asociados 345 son controlados por la computadora 355 de acuerdo con un protocolo de centrifugación de división-giro 400 pre-programado, Fig. 4.

Haciendo referencia a la FIG. 4, el número de referencia 410 representa de nuevo, para fines de comparación, un protocolo estándar de una sola centrífuga a partir de, por ejemplo, 16 elementos de prueba que requieren centrifugación durante 24 minutos. El ciclo comienza en el momento 442 y termina 24 minutos más tarde en el tiempo 447. Al dividir los 16 elementos de prueba en 4 minilotes de cuatro elementos de prueba cada uno, cada minilote por lo tanto se puede centrifugar para el período de tiempo 460 igual a  $24/4 = 6$  minutos. Si se utilizan cuatro centrifugas y el funcionamiento de cada centrifugadora se escalona con respecto a cada uno de las demás centrifugadoras por un período de 455, igual a  $24/4 \times 4 = 1,5$  minutos, una centrífuga 350, FIG. 3, se hace disponible para la carga o descarga de cada 1,5 minutos. Dependiendo del periodo de tiempo 450 necesario para la descarga y carga de cada una de centrífuga 350, la frecuencia de la carga y recarga se puede aumentar hasta  $4 \times 4 = 16$  veces en comparación con la centrifugación de los elementos de ensayo 16 en una única centrifugadora para una ejecución de 24 minutos.

En otra realización, el horario de inicio-parada de las centrifugadoras y mecanismos de accionamiento asociados 345 son controlados por la computadora 355 de acuerdo con un protocolo de centrifugación de división-giro preprogramado al azar 500, FIG. 5 y se discutió anteriormente. De acuerdo con este escenario, la centrifugación de uno o más lotes de elementos de ensayo que duran un periodo de tiempo igual al período de tiempo 570 se divide aleatoriamente en potencialmente cualquier número de giros discretos 565 de duración variable 575. El número de giros discretos se encuentra sólo limitado por el tiempo deseado para dar como resultado un lote particular de elementos de ensayo. El ordenador registra cada elemento de prueba y determina cuando la centrifugación de un elemento de prueba en particular es completa. El ordenador entonces coordina la carga y descarga de las centrifugas al final de cada giro discreto incrementando de este modo el rendimiento global del aparato.

Con esta comprensión del funcionamiento escalonado de cada una de las centrifugadoras 350 y haciendo referencia de nuevo a la figura 3, cuando una de las cuatro centrifugadoras 350 se detiene, el ordenador 355 determina que los elementos de prueba han completado el necesario período de centrifugación de 24 minutos y dirige el brazo robótico 340 para eliminar los elementos de prueba seleccionados a partir de la centrífuga a la cinta transportadora 335. Los elementos de prueba a continuación, pasan por delante de un lector de código de barras 387 y el detector 360 antes de la eliminación en la ranura de expulsión. Datos del lector de código de barras 387 y los detectores 360 son procesados y analizados por el ordenador 355. Los resultados de la prueba de hemaglutinación se pueden representar en un monitor o enviarse al servidor centralizado a través de una red de área local 395 (LAN), mostrados en forma de diagrama. En una realización alternativa, una cámara puede utilizarse para fotografiar cada elemento de prueba. Resultados de la prueba de aglutinación son evaluados entonces por el ordenador 355 utilizando el software de análisis de imagen.

En otra realización, cada elemento de prueba es fotografiado después de cada giro discreto, es decir, en este ejemplo, cada 6 minutos. Elementos de prueba que son determinados por el ordenador para ser negativo o



positivo pueden tener el resultado registrado y retirado de la centrífuga sin la necesidad de proceder con el tiempo de giro restante, es decir, en este ejemplo,  $24 - 6 = 18$  minutos. Esta capacidad reduce el tiempo para dar resultado y liberar ranuras disponibles dentro de cada una de las centrifugadoras aumentando así aún más el rendimiento global del instrumento.

5 La estación de trabajo de centrifugación de división-giro 300 para la tipificación de la sangre como se describe anteriormente está totalmente automatizada, eficiente y requiere mínima intervención humana. El aparato es, por lo tanto, ideal para carriles de STAT en instalaciones de cuidado urgente donde, por ejemplo, muestras de sangre han de procesarse rápidamente con el fin de determinar si la sangre de un donante es compatible con un paciente antes de la transfusión de sangre.

10 Si bien esta invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencias a realizaciones preferidas de la misma, se entenderá por los expertos en la técnica que diversos cambios en forma y detalles pueden hacerse en la misma sin apartarse del alcance previsto de la invención abarcado por las siguientes reivindicaciones adjuntas.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**Reivindicaciones**

1. Un método (115, 120) de centrifugación por lotes de muestras de ensayo, comprendiendo el método las etapas de:

- 5 a) creando dos lotes secundarios más pequeños a partir de un lote principal de muestras de ensayo, teniendo el lote primario de muestras de ensayo un único protocolo de centrifugación ininterrumpido (110);
- b) cargando las muestras de ensayo de dichos lotes secundarios en dos centrifugadoras que operan durante la mitad del tiempo que el protocolo (110);
- 10 c) escalonamiento de la operación de las centrifugadoras con respecto a la otra;
- d) una pausa (150) en el funcionamiento de las centrifugadoras escalonados y al menos uno de la carga de nuevas muestras y descarga de muestras de prueba completadas de cada una de las centrifugadoras en pausa durante dicha etapa de pausa (150); y
- 15 e) reanudando dicha centrifugación de dichas centrifugadoras pausadas, en las que la frecuencia de dicha descarga y recarga de dichas centrifugadoras se incrementa en comparación con la frecuencia de descarga y recarga de una sola centrífuga primaria cargada con una carga primaria de muestras de ensayo.

20

25

30

35

40

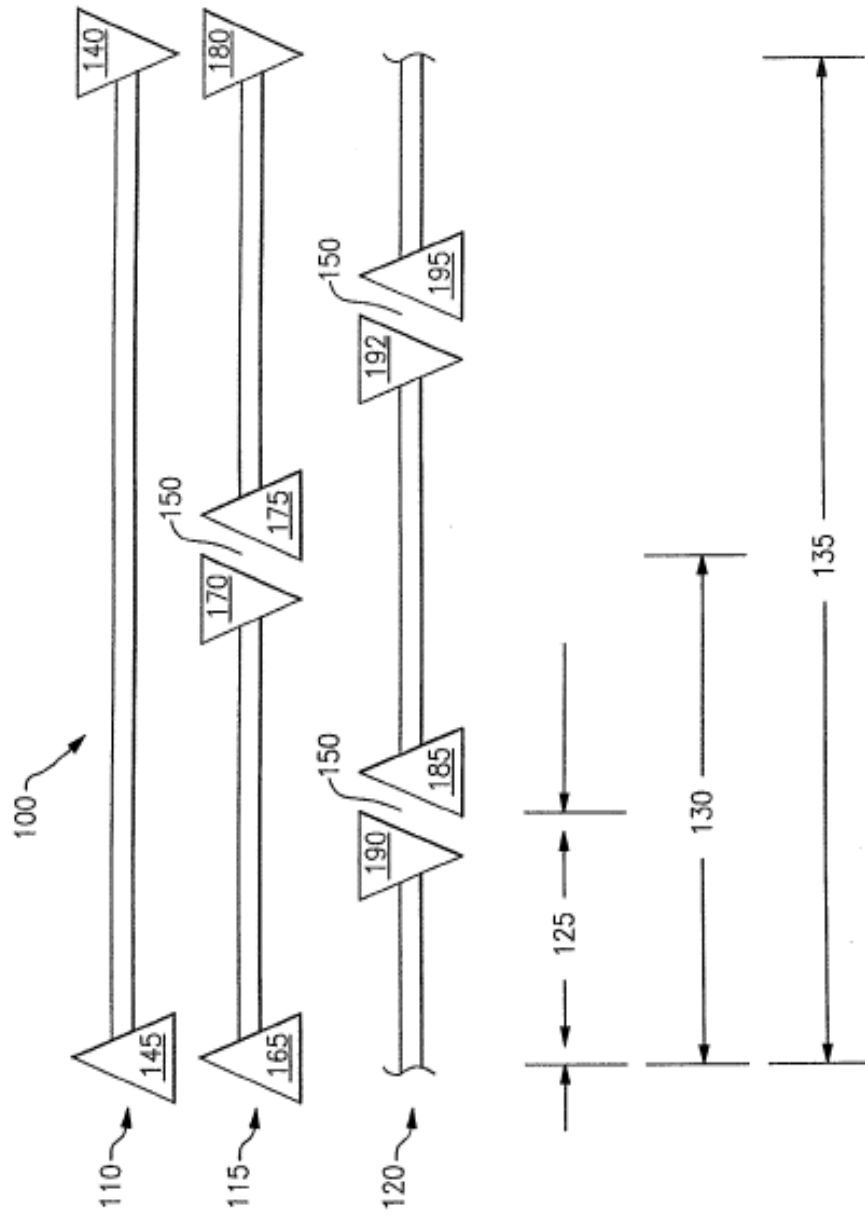
45

50

55

60

65



**FIG.1**

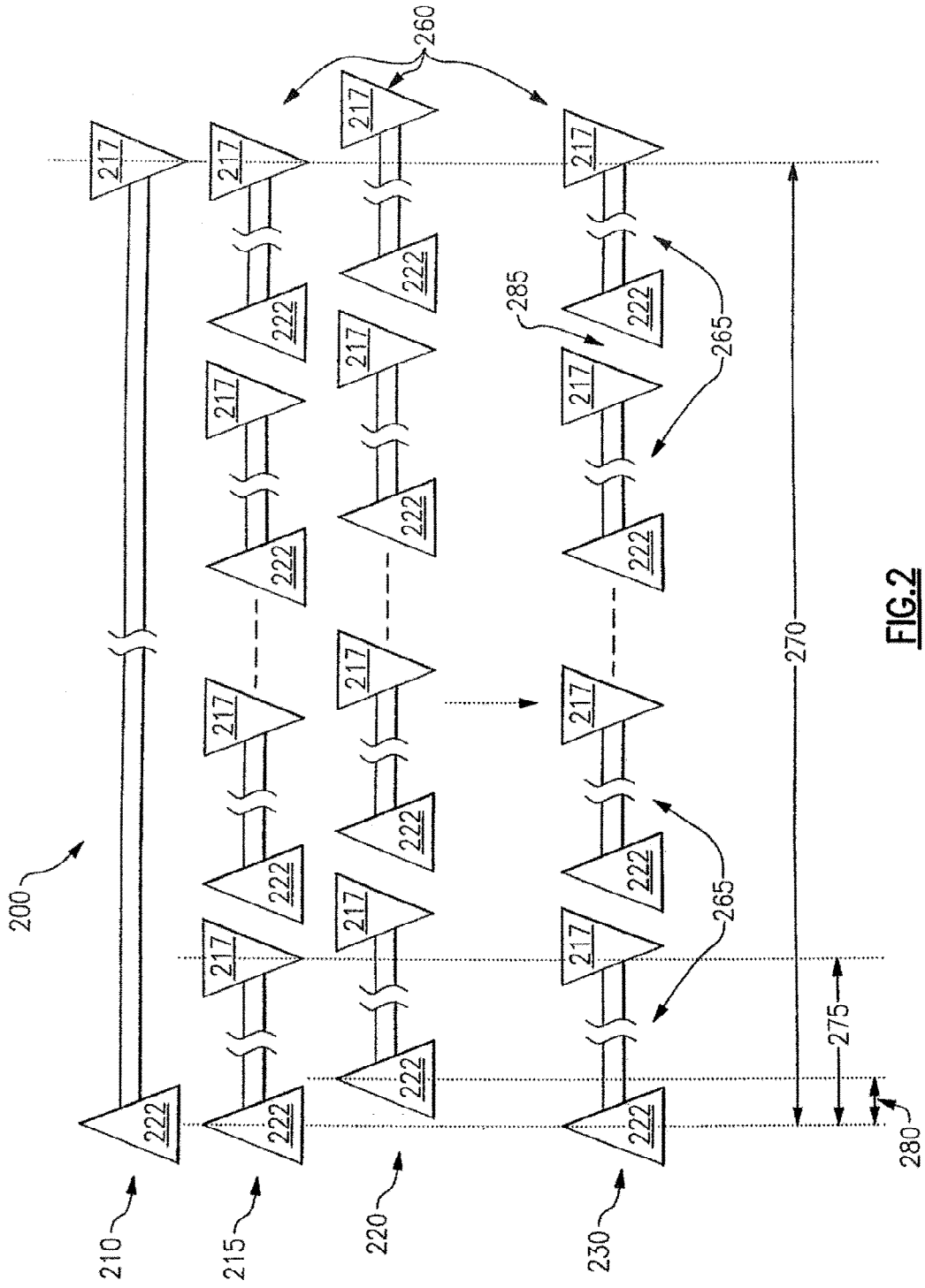
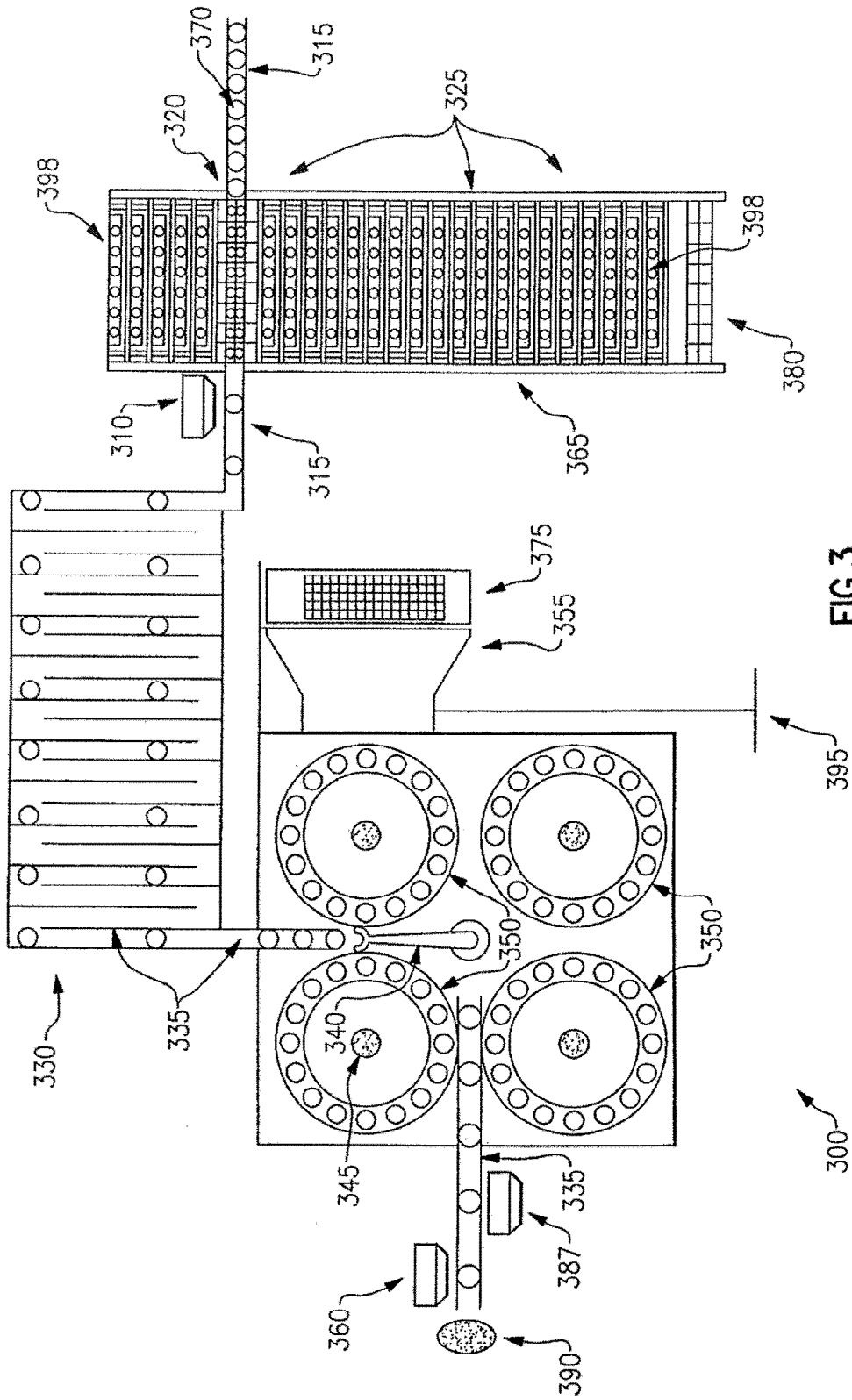


FIG. 2



**FIG.3**

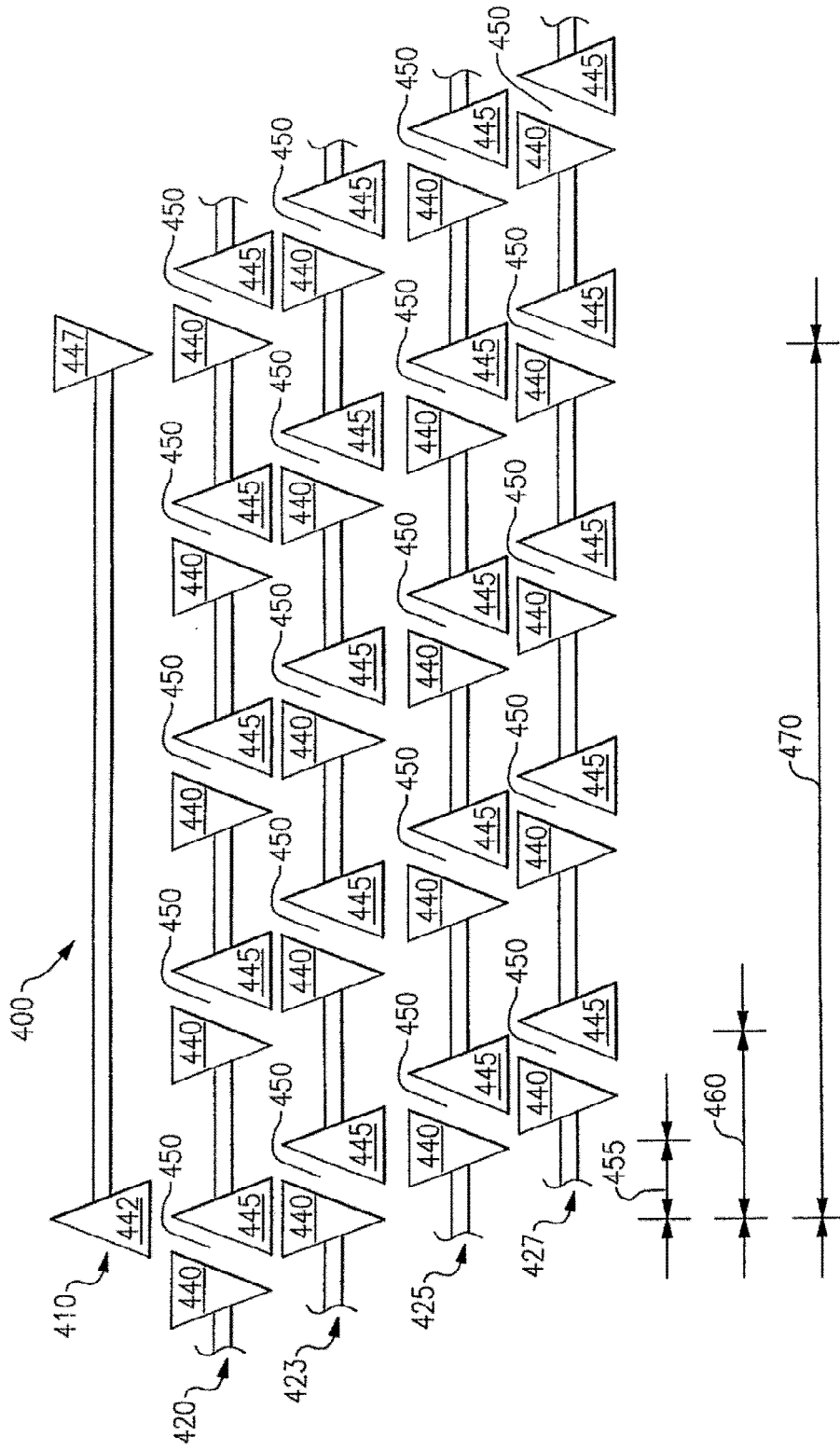
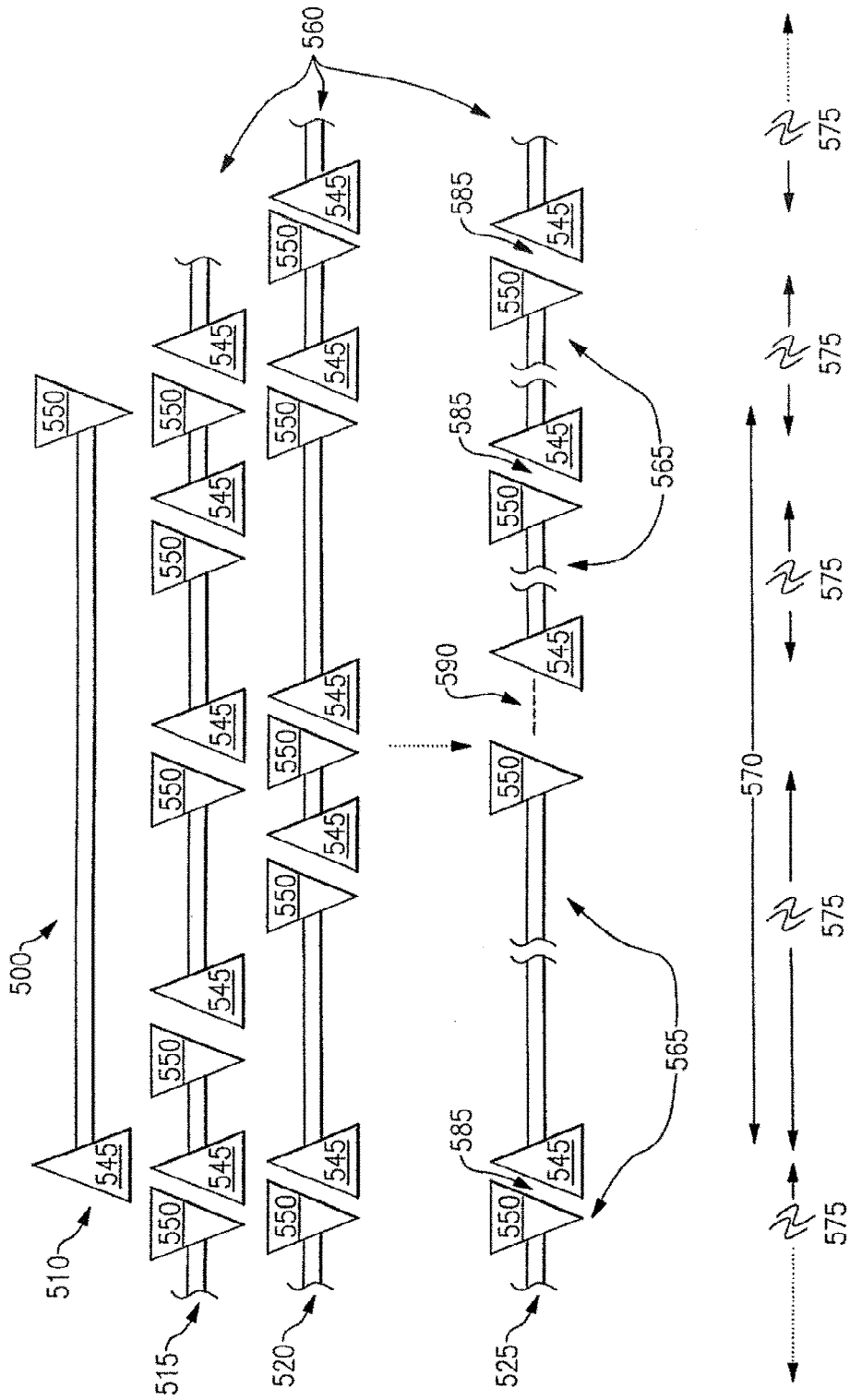


FIG. 4



**FIG.5**