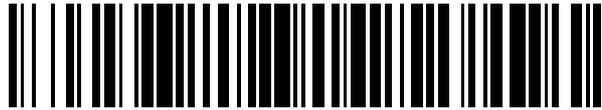


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 174**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

B01F 5/06 (2006.01)

B01F 13/00 (2006.01)

G01N 15/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.12.2011 PCT/US2011/063981**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.06.2012 WO12078896**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2011 E 11806032 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.02.2018 EP 2648846**

54 Título: **Aparato y método que usan un agente anti-adsorción para facilitar la mezcla y el análisis de muestras**

30 Prioridad:

09.12.2010 US 421451 P

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

21.03.2018

73 Titular/es:

**ABBOTT POINT OF CARE, INC. (100.0%)
400 College Road East
Princeton, NJ 08540, US**

72 Inventor/es:

**LALPURIA, NITEN V.;
UNFRICHT, DARRYN W.;
NIKONOROV, IGOR;
PORTS, BENJAMIN y
OLSON, DOUGLAS R.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 660 174 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Aparato y método que usan un agente anti-adsorción para facilitar la mezcla y el análisis de muestras

5 Antecedentes de la invención

1. Campo técnico

10 La presente invención se refiere a aparatos y métodos para los análisis de fluido biológico en general, y a los mismos en los que una muestra biológica se mezcla para producir una distribución uniforme de los componentes y/o reactivos.

2. Información de antecedentes

15 Históricamente, las muestras de fluidos biológicos tales como sangre completa, orina, líquido cefalorraquídeo, fluidos de la cavidad del cuerpo, etc. han tenido sus contenidos de partículas o celulares evaluados untando una pequeña cantidad sin diluir del fluido en un portaobjetos y evaluando ese frotis bajo un microscopio. Pueden obtenerse resultados razonables de dicho frotis, pero la integridad de la célula, la precisión y la confiabilidad de los datos dependen en gran medida de la experiencia y la técnica del técnico. El análisis por frotis también es limitado y no puede usarse para análisis tales como un hemograma completo (CBC).

25 En algunos casos, los componentes dentro de una muestra de fluido biológico pueden analizarse usando una citometría óptica de impedancia o de flujo. Estas técnicas evalúan un flujo de muestra de fluido diluido pasando el flujo diluido a través de uno o más orificios localizados en relación con un dispositivo de medición de impedancia o un dispositivo de formación de imágenes ópticas. Las desventajas de estas técnicas incluyen que requieren la dilución de la muestra y el aparato de manejo de flujo de fluidos.

30 Se sabe que las muestras de fluidos biológicos tales como sangre entera que se mantienen en reposo durante más de un período determinado de tiempo comenzarán su "sedimentación", durante cuyo tiempo los constituyentes dentro de la muestra se obtendrán a partir de la distribución constituyente presente dentro de la muestra recogida; por ejemplo, se obtiene a partir de una distribución uniforme de constituyentes dentro de la muestra. Si la muestra se mantiene en reposo el tiempo suficiente, los constituyentes dentro de la muestra pueden sedimentarse por completo y estratificarse (por ejemplo, en una muestra de sangre completa, pueden formarse capas de glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas dentro de una muestra en reposo). La no uniformidad dentro de la muestra también puede ocurrir cuando se produce la adsorción dentro de un conducto de fluido. El término "adsorción" tal como se usa en el presente documento se refiere a la tendencia de la muestra de fluido, o partes de la misma, a adherirse a las superficies de un conducto de fluido. Si una población suficientemente grande de constituyentes dentro de una muestra de fluido (por ejemplo, plaquetas, glóbulos rojos, glóbulos blancos en una muestra de sangre completa) se adhiere a un conducto de fluido entre el punto de recogida y la cámara en la que se analizará la muestra, la muestra disponible para el análisis podría ser no representativa de la muestra recogida. En tales casos, la precisión del análisis podría verse afectada negativamente.

45 En las realizaciones en las que puede desearse depositar uno o más reactivos dentro del cartucho para mezclar con la muestra, los reactivos pueden estar en una forma (por ejemplo, en forma de partículas, en forma cristalina, baja solubilidad, etc.) que inhibe la disolución con la muestra. Las partículas no disueltas de reactivo por encima de un cierto tamaño no se admitirán en la cámara de análisis, pero otras pueden pasar a la cámara de análisis donde pueden aparecer como restos dentro de las imágenes de muestra. Por ejemplo, las partículas grandes de colorante pueden crear altas concentraciones localizadas de colorante, cuyas concentraciones pueden saturar las células y hacerlas no identificables. En cualquier caso, la concentración y la uniformidad del reactivo dentro de la muestra pueden verse negativamente afectadas.

50 El documento US 2009/075390 A1 desvela la contención de líquido para ensayos integrados. El documento WO 2010/111382 A1 desvela la mejora de la interferencia del inmunosensor del anticuerpo heterófilo. El documento US 2010/291666 A1 desvela unos sistemas y unos métodos de diagnóstico molecular.

55 Lo que se necesita es un aparato y un método para analizar muestras de fluidos biológicos que faciliten la uniformidad de la muestra, y/o la uniformidad del reactivo dentro de la muestra.

60 Divulgación de la invención

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un cartucho de análisis para una muestra de fluidos biológicos de acuerdo con la reivindicación 1.

65 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para analizar una muestra de fluidos biológicos de acuerdo con la reivindicación 8.

Las características y ventajas de la presente invención se harán evidentes a la luz de la descripción detallada de la invención proporcionada a continuación, y como se ilustra en los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

- 5 La figura 1 ilustra un dispositivo de análisis de fluidos biológicos.
- La figura 2 es una vista en planta esquemática de una realización de cartucho.
- La figura 3 es una vista en sección esquemática de la realización del cartucho.
- 10 La figura 4 es una vista en sección esquemática de una realización de la presente interfaz de cartucho y el cartucho.
- La figura 5 es una vista esquemática del sistema de análisis de la presente invención.
- La figura 6 es un diagrama esquemático de un tipo de disco piezoeléctrico del accionador bilateral.

Descripción detallada

15 Haciendo referencia a las figuras 1 - 5, el sistema de análisis de la presente invención 20 incluye un cartucho de muestras de fluidos biológicos 22 y un dispositivo de análisis automatizado 24 para analizar las muestras de fluidos biológicos tales como la sangre completa. El dispositivo de análisis automatizado 24 incluye un hardware de formación de imágenes 26, un sistema de mezcla de muestras 28, y un analizador programable 30 para controlar el procesamiento de la muestra, la formación de imágenes y el análisis. El sistema de mezcla de muestras 28 puede operarse para manipular una muestra de fluido para hacer que los constituyentes dentro de la muestra se distribuyan al menos de manera sustancialmente uniforme dentro de la muestra antes del análisis de la muestra. Un cartucho de análisis de muestra 22 se describe esquemáticamente a continuación para ilustrar la utilidad de la presente invención. El presente sistema 20 no está limitado a ninguna realización de un cartucho 22 específico. Se describen unos ejemplos de un cartucho 22 aceptable en la solicitud de patente de Estados Unidos números de serie 12/971.860; 61/470.142; y 61/527.114. Sin embargo, la presente invención no está limitada a su uso con ningún cartucho 22 específico.

30 El cartucho 22 descrito en la solicitud de patente de Estados Unidos N.º de serie 12/971.860, que es un ejemplo de un cartucho usado en el presente documento para facilitar la descripción del aparato y método presente, incluye un puerto de recogida de muestras de fluido 32, una válvula 34, un canal inicial 36, un canal secundario 38, un puerto de controlador de fluidos 40, y una cámara de análisis 42. El puerto de recogida 32 está configurado para recoger la muestra de fluido (por ejemplo, por pinchazo en el dedo, deposición por aguja, etc.). El canal inicial 36 está en comunicación de fluidos con el puerto de recogida 32 y está dimensionado de tal manera que la muestra depositada dentro del puerto de recogida 32 se extrae al canal inicial 36 por fuerzas capilares. La válvula 34 está dispuesta en, o en comunicación con, el canal inicial 36, cerca del extremo del canal 36 acoplada con el puerto de recogida 32 (en unas realizaciones de cartucho alternativas no se requiere una válvula). El canal secundario 38 está en comunicación de fluidos con el canal inicial 36, corriente abajo del canal inicial 36. La geometría de la intersección entre el canal inicial 36 y el canal secundario 38 es de tal manera que la muestra de fluido que reside dentro del canal inicial 36 no se extraerá por una fuerza capilar en el canal secundario 38. El canal secundario 38 está directa o indirectamente en comunicación de fluidos con la cámara de análisis 42. La cámara de análisis 42 incluye un par de paneles (al menos uno de los cuales es transparente) separados por una distancia, configurados para recibir una muestra de fluido entre los mismos para el análisis de imágenes. La estructura que proporciona la comunicación de fluidos entre el canal secundario 38 y la cámara de análisis 42 puede adoptar una variedad de formas diferentes. En una realización, un canal de medición se extiende entre el canal secundario 38 y la cámara de análisis 42, cuyo canal de medición está dimensionado para extraer el fluido del canal secundario 38 por acción capilar. En otra realización, una antecámara 46 está dispuesta entre, y está en contacto de fluidos con, tanto el canal secundario 38 como un borde de la cámara de análisis 42 (por ejemplo, véase la figura 3). La muestra de fluido dentro del canal secundario 38 puede, por ejemplo, moverse al interior de la antecámara 46 mediante una presión desde el sistema de mezcla de muestras 28 o por gravedad, etc. Las realizaciones anteriores del cartucho se ofrecen para ilustrar la utilidad y el alcance del cartucho actual. El cartucho actual y el método no están limitados a estas realizaciones.

De acuerdo con la presente invención, uno o más reactivos (por ejemplo, heparina, EDTA, colorantes tales como el naranja de acridina, etc.) se depositan dentro del cartucho en una o más zonas (por ejemplo, el puerto de recogida de muestras de fluidos 32, el canal inicial 36, el canal secundario 38, la cámara de análisis 42, etc.). Por ejemplo, puede disponerse un anticoagulante dentro del puerto de recogida 32 para inhibir la coagulación de la muestra de sangre. Para los fines de esta divulgación, el término "reactivo" se define como que incluye sustancias que interactúan con la muestra, y colorantes que añaden una coloración detectable a la muestra. A medida que el fluido de muestra se extrae a través del canal inicial 36, la muestra se mezcla al menos parcialmente con el reactivo inicialmente dispuesto en el puerto de recogida 32.

En algunas realizaciones del cartucho actual donde se añade más de un reactivo a la muestra, se elige específicamente el orden en el que la muestra que viaja a través del cartucho se encuentra con los reactivos. Por ejemplo, en aquellos análisis donde es necesario o deseable mezclar la muestra con el reactivo "A" antes de mezclar con el reactivo "B", una cantidad apropiada del reactivo "A" (por ejemplo, un anticoagulante - EDTA) puede colocarse corriente arriba (por ejemplo, en el canal inicial 34) de una cantidad apropiada del reactivo "B" (por ejemplo, un

colorante dispuesto en el canal secundario 38). La distancia entre el reactivo "A" y el reactivo "B" puede ser suficiente para que el reactivo "A" se mezcle adecuadamente con la muestra antes de la introducción del reactivo "B". Como alternativa, como se describirá a continuación, el bolo de muestra puede reciclarse en la localización del reactivo "A" antes del movimiento del bolo hasta la posición donde se localiza el reactivo "B". El ciclo del bolo de muestra puede lograrse usando un accionador bidireccional para propulsar el bolo de ida y vuelta como se describirá a continuación. El ejemplo mencionado anteriormente no pretende ser limitante de ninguna manera. Puede elegirse la colocación de los reactivos dentro de los conductos de fluido del cartucho, por ejemplo: a) para garantizar que el pretratamiento de un reactivo se realiza antes de la interacción posterior; b) para minimizar o evitar la competencia entre reactivos específicos para la interacción celular; y/o c) para aquellos casos en los que las características de un reactivo son de tal manera que el reactivo puede necesitar un tiempo adicional de interacción con la muestra en relación con otros reactivos.

Se añaden uno o más aditivos a un reactivo depositado dentro del cartucho para facilitar la disolución de ese reactivo dentro de la muestra. Esto es, por ejemplo, común para los colorantes (por ejemplo, el naranja de acridina, también conocido como "AcO" o naranja básica 15; el naranja de astrazón - también denominado "AzO" o naranja básica 21) que se agregará a la muestra para facilitar el análisis de la muestra. Como se ha indicado anteriormente, es nuestra experiencia que durante el proceso de deposición, tales colorantes pueden estar en una forma que inhibe la disolución con la muestra, afectando en consecuencia negativamente a la concentración y a la uniformidad del colorante dentro de la muestra. Para evitar estos problemas, se mezcla un aditivo de disolución con el colorante (u otro reactivo) antes de depositar el colorante dentro del cartucho. Un ejemplo de un aditivo de disolución aceptable es la trehalosa. El colorante y la trehalosa se mezclan en una solución líquida y se depositan dentro del cartucho, donde posteriormente se dejan secar. Se entiende que la estructura molecular de la trehalosa promueve un tamaño de partícula de colorante uniforme y evita la formación de partículas grandes; por ejemplo, la estructura molecular de la trehalosa es de tal manera que se distribuyen partículas de colorante más pequeñas dentro de la matriz de trehalosa, facilitando de este modo una distribución de partículas de colorante más uniforme e inhibiendo la formación de partículas de colorante grandes. Como un ejemplo, en un análisis de sangre completa, se agrega una cantidad aceptable de colorante AcO (por ejemplo, 1,8 µg) a una muestra de prueba de 20 µl de sangre completa (es decir, una concentración de colorante de 90 µg/µl). Puede lograrse la disolución de colorante favorable dentro de la muestra de sangre total de 20 µl depositando inicialmente una mezcla de más de 0,9 µg de trehalosa con 1,8 µg de colorante dentro de un conducto del cartucho; por ejemplo, una relación mayor de 1:2 de trehalosa colorante. Los datos actuales sugieren que la relación de trehalosa colorante puede ser tan alta como de 8:1 con resultados favorables. Como alternativa, para una muestra de sangre completa del mismo tamaño (20 µl), puede lograrse una disolución de colorante favorable mezclando una cantidad de EDTA (por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 10-30 µg) con los 1,8 µg de colorante. Otro ejemplo de un aditivo de disolución aceptable es una sustancia que comprende dendrímeros.

En algunas realizaciones de la presente invención, están incluidos los reactivos operables para evitar la adsorción de la muestra sobre las superficies dentro del cartucho 22 (por ejemplo, las paredes de canal de fluido). Los conductos de fluido dentro del cartucho 22 pueden formarse de un material tal como un plástico o un vidrio. Los plásticos normalmente usados son de naturaleza hidrofóbica; por ejemplo, policarbonato ("PC"), politetrafluoroetileno ("PTFE"), silicona, Tygon®, polipropileno, etileno polietileno fluorado ("FEP"), copolímero de perfluoroalcoxi ("PFA"), copolímero de olefina cíclica ("COC"), etileno tetrafluoroetileno (ETFE), fluoruro de polivinilideno, etc. En algunas aplicaciones, los conductos de fluido están recubiertos para aumentar su hidrofobicidad. Un ejemplo de un material hidrofóbico que puede aplicarse como recubrimiento es la solución de polímero FluoroPel™ disponible en Cytonix Corporation, de Beltsville, Maryland, EE. UU. Cuando una sustancia como el agua pasa a través de un conducto formado en (y/o recubierto con) un material hidrofóbico, el agua no se adsorbe en las superficies del conducto hidrofóbico. Sin embargo, la sangre completa y otros fluidos biológicos que contienen proteínas (a los que se hace referencia en lo sucesivo en el presente documento colectivamente como "sangre" para facilitar la descripción) se comportan de manera diferente al agua pura y se adsorben por las paredes de los conductos hidrofóbicos. Se cree que la adsorción se produce, al menos en parte, porque la sangre contiene proteínas anfífilas tales como albúmina, inmunoglobulina y fibrinógeno. Estas proteínas son "anfífilas" porque tienen regiones hidrofóbicas y regiones hidrofílicas. Las regiones hidrofóbicas pueden adsorberse fácilmente en una superficie hidrofóbica, momento en el cual se exponen las regiones hidrófilas (por ejemplo, expuestas al exterior). Como resultado, la superficie una vez hidrofóbica se convierte efectivamente en una superficie hidrófila. Cuando la sangre posterior fluye sobre la superficie hidrófila, una capa se adsorbe en la superficie.

Para superar la adsorción no deseable, se mezcla un reactivo de "anti-adsorción" con la muestra para disminuir la adsorción de la muestra sobre las paredes del conducto. En el caso de un análisis de muestra de sangre entera, puede usarse un reactivo que impida la capacidad de las proteínas dentro de la muestra para adherirse a las paredes del conducto. Los agentes tensoactivos y/u otros reactivos que hacen que las proteínas anfífilas sean "menos activas" en relación con una superficie hidrofóbica (es decir, menos atraídas hacia la superficie del canal) son reactivos anti-adsorción deseables porque disminuyen la propensión de las proteínas a adherirse a la superficie. Se cree que los agentes tensoactivos recubren las proteínas anfífilas y, por lo tanto, hacen que las proteínas sean menos activas. Para la mayoría de los análisis de sangre total, el agente tensoactivo puede ser de un tipo que no es hemolítico y/o usado en una concentración que es no hemolítica cuando se mezcla con la muestra. De hecho, los

agentes tensoactivos son deseables para los análisis de sangre completa porque pueden usarse de manera efectiva en concentraciones que no producen lisis de los RBC. Para aquellos análisis de muestra en los que la lisis no es un problema, puede usarse un reactivo hemolítico.

5 Más de un tipo de agente tensoactivo puede usarse como un reactivo anti-adsorción. Por ejemplo, unos agente tensoactivos no iónicos (por ejemplo, Triton X-305 de Dow Chemical Co., Surfactant 10G de Dixie Chemical Co., Pluronic F-108 de BASF Corporation, y Tween-20, Tween-60, y/o Tween-80 de Roche Diagnostics de Mannlieim, Alemania) operan muy favorablemente con una variedad de diferentes tipos de superficies de conducto (por ejemplo, FluoroPel™ que recubre en un PC, FEP, PFA, ETFE o en un sustrato de fluoruro de polivinilideno). Concentraciones
10 de Triton-305 o Surfactant 10G™ en, o por encima de, 0,1 ng/μL dentro de una muestra de sangre completa muestran una adsorción aceptable dentro de un conducto de policarbonato recubierto con un recubrimiento de FluoroPel™. De manera similar, las concentraciones de Tween-20™ Tween-60™ y Tween-80™ en una concentración de 0,5 ng/μL o superior en una muestra de sangre completa muestran una adsorción aceptable dentro
15 de un conducto de policarbonato recubierto con un recubrimiento de FluoroPel™. Otros agentes tensoactivos no iónicos que producen una adsorción aceptable cuando se mezclan con una muestra de sangre completa incluyen el Triton X-100 y el Triton X-705.

Los agentes tensoactivos zwitteriónicos tales como 3-dimetil (metacriloiloxietil) propano amonio sulfonato (DMAPS) y 3- [(3-colamidopropil) dimetilamonio]-1-propanosulfonato (CHAPS) también pueden usarse como agentes anti-
20 adsorción. Por ejemplo, las concentraciones de DMAPS o CHAPS en, o por encima de, 0,05 ng/μL dentro de una muestra de sangre completa muestran una adsorción aceptable dentro de un conducto de policarbonato recubierto con un recubrimiento de FluoroPel™.

Los agentes tensoactivos catiónicos (por ejemplo, HDTAB) y los agentes tensoactivos aniónicos (por ejemplo, hidrato de colato de sodio, desoxicolato de sodio) pueden usarse también como agentes anti-adsorción. Las
25 concentraciones de uno cualquiera de entre el HDTAB, el colato de sodio hidratado o el desoxicolato de sodio a una concentración de 0,05 ng/μL o superior en una muestra de sangre completa muestran una adsorción aceptable dentro de un conducto de policarbonato recubierto con un recubrimiento de FluoroPel™.

30 Desechar la cantidad apropiada de un reactivo anti-adsorción en un conducto corriente arriba (por ejemplo, dentro del canal inicial) en lugar de en un conducto corriente abajo (por ejemplo, el canal secundario) es ventajoso, pero no es necesario para la operatividad del cartucho actual. Las pruebas indican que desechar el reactivo anti-adsorción en un conducto corriente arriba (por ejemplo, cuenco, canales, canal inicial, etc.) facilita el movimiento de la muestra por acción capilar o de otro modo a través de los diversos conductos, y también parece ayudar a otros reactivos (por
35 ejemplo, EDTA) a disolverse y entrar en solución con la muestra.

Haciendo referencia a la figura 4, el puerto de controlador de fluidos 40 está configurado para acoplarse al sistema de mezcla de muestras 28 y para permitir que el fluido presurizado (por ejemplo, aire a presiones positivas y/o
40 negativas) acceda al cartucho 22 para provocar el movimiento de la muestra de fluido dentro del cartucho 22. El puerto de controlador de fluidos 40 está en comunicación de fluidos con el canal 36 inicial a través del canal 41 en una posición 50 corriente abajo de la válvula 34. En esa posición 50, la válvula 34 puede operarse para cerrar el puerto de recogida 32 desde el puerto de controlador de fluidos 40. Un ejemplo de un puerto de controlador de fluidos 40 es una cavidad dentro del cartucho 22 cubierta por una tapa 52 que incluye una membrana rompible que puede perforarse mediante una sonda 70 del sistema de mezcla de muestras 28. La sonda 70 que se acopla al
45 puerto 40 crea una comunicación de fluidos entre el sistema de mezcla de muestras 28 y los canales dentro del cartucho 22. Como se ha indicado anteriormente, la presente invención no está limitada al uso con el cartucho a modo de ejemplo descrito en el presente documento para facilitar la descripción de la presente invención; por ejemplo, la presente invención puede usarse con cartuchos que no incluyen una válvula 34 o un puerto de controlador 40, u otros que incluyen diferentes configuraciones de válvula y/o de puerto de controlador.

50 Un ejemplo de un dispositivo de análisis 24 que puede usarse con el cartucho de la invención actual, se muestra esquemáticamente en la figura 5, que representa su hardware de formación de imágenes 26, un sistema de mezcla de muestras 28, un dispositivo de sujeción y manipulación de cartuchos 54, una lente objetivo de muestra 56, una pluralidad de iluminadores de muestra 58 y un disector de imágenes 60. Una o ambas de las lentes objetivo 56 y el
55 dispositivo de sujeción de cartucho 54 pueden moverse hacia y lejos unos de otros para cambiar una posición focal relativa. Los iluminadores de muestra 58 iluminan la muestra usando luz a lo largo de longitudes de onda predeterminadas. La luz transmitida a través de la muestra, o el fluorescente de la muestra, se captura usando el disector de imagen 60, y una señal representativa de la luz capturada se envía al analizador programable 30, donde se procesa en una imagen. El hardware de formación de imágenes 26 descrito en la patente de Estados Unidos n.º 6.866.823 y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 13/204.415 son tipos aceptables de hardware de formación de imágenes 26 para el dispositivo de análisis actual 24. Sin embargo, la presente invención no está limitada a usarse con el hardware de formación de imágenes 26 mencionado anteriormente.

65 El analizador programable 30 incluye una unidad de procesamiento central (CPU) y está en comunicación con el dispositivo de sujeción y manipulación de cartuchos 54, el iluminador de muestra 58, el disector de imagen 60, y el sistema de mezcla de muestras 28. La CPU está adaptada (por ejemplo, programada) para recibir las señales y

realizar selectivamente las funciones necesarias para operar el dispositivo de sujeción y manipulación de cartuchos 54, el iluminador de muestras 58, el disector de imágenes 60 y el sistema de mezcla de muestras 28. Debería observarse que la funcionalidad del analizador programable 30 puede implementarse usando hardware, software, firmware o una combinación de los mismos. Un experto en la materia podría programar la unidad para realizar la funcionalidad descrita en el presente documento sin excesiva experimentación.

Haciendo referencia a las figuras 4 a 6, el sistema de mezcla de muestras 28 incluye un accionador bidireccional 48 y una interfaz de cartucho 62. El accionador bidireccional 48 (mostrado esquemáticamente en la figura 6) puede operarse para producir de manera independiente tanto un desplazamiento de fluido positivo como negativo a una o más frecuencias, desplazamiento que puede mover la muestra dentro del cartucho. Un ejemplo de un accionador bidireccional 48 aceptable es un accionador de tipo de disco de flexión piezoeléctrico, usado con un controlador 64 para controlar el accionador 48. Los accionadores del tipo de disco de flexión piezoeléctrico tienen normalmente un tiempo de respuesta relativamente rápido, baja histéresis, baja vibración, alta linealidad y alta fiabilidad. En la realización mostrada en la figura 6, el accionador de tipo de disco de flexión piezoeléctrico incluye un disco de flexión piezoeléctrico de dos capas 66 dispuesto en una carcasa 68. El disco de flexión piezoeléctrico de dos capas 66 está configurado para crear una deflexión de flexión en dos direcciones opuestas (por ejemplo, -y, +y). Ejemplos de un disco de flexión piezoeléctrico de dos capas 66 pueden encontrarse en la serie T216-A4NO ofrecida por Piezo Systems, Inc., localizada en Cambridge, Massachusetts, EE. UU. La presente invención no está limitada a los actuadores de tipo de disco de flexión piezoeléctrico en general, y por lo tanto, no se limita a estos tipos particulares de discos de flexión piezoeléctricos de dos capas. La presente invención tampoco está limitada a un único accionador de fluido que funciona de manera bidireccional; por ejemplo, la presente invención podría usarse con un sistema que usa una pluralidad de accionadores unidireccionales, o combinaciones de accionadores unidireccionales y bidireccionales.

El controlador 64 está en comunicación con el accionador bidireccional 48 y puede operarse para controlar el accionador 48. La funcionalidad del controlador 64 puede implementarse usando hardware, software, firmware, o una combinación de los mismos. El controlador 64 puede incorporarse en el analizador programable 30, o puede ser una unidad separada en comunicación con el analizador programable 30.

Haciendo referencia a las figuras 3 y 4, la interfaz de cartucho de muestra 62 incluye un conducto de fluido entre el accionador bidireccional 48 y una sonda 70 operable para acoplarse al puerto de controlador de fluidos 40 del cartucho 22. La interfaz 62 crea una comunicación de fluidos entre el accionador bidireccional 48 y el puerto de controlador de fluidos 40 del cartucho 22. Si el puerto de controlador de fluidos 40 tiene una tapa 52 que incluye una membrana rompible, la sonda 70 puede operarse para romper la membrana y proporcionar de este modo una comunicación de fluidos entre el accionador bidireccional 48 y el puerto de controlador de fluidos 40 del cartucho. La membrana, que se perfora por la sonda 70, se sella alrededor de la sonda 70 para hacer que la trayectoria del fluido sea hermética al aire. La figura 4 ilustra esquemáticamente esta realización con una sonda 70 mostrada en una línea de puntos. La presente invención no está limitada a la configuración de membrana/sonda, que se proporciona para fines ilustrativos.

En la operación del presente sistema 20, una muestra de fluido biológico (por ejemplo, sangre entera) se deposita dentro del puerto de recogida 32 del cartucho 22, y posteriormente se extrae al canal inicial 36 del cartucho 22 mediante una acción capilar, donde puede residir durante un período de tiempo (por ejemplo, el tiempo entre la recolección del sujeto y el análisis de la muestra). El bolo de muestra se extraerá al canal inicial 36 mediante fuerzas capilares hasta que el borde delantero del bolo de muestra alcanza la entrada al canal secundario 38. En ciertas realizaciones del cartucho actual 22, uno o más reactivos 72 pueden estar dispuestos dentro del canal inicial 36 y/o en el puerto de recogida 32. En esas realizaciones, cuando la muestra se deposita en el cartucho 22 y se desplaza dentro del canal inicial 36, los reactivos 72 se mezclan con la muestra. En aquellos casos en que el análisis de la muestra no se realiza inmediatamente después de la recolección de muestras, pueden mezclarse reactivos específicos (por ejemplo, anticoagulantes como heparina o EDTA en un análisis de sangre total) con la muestra para mantener la muestra en un estado aceptable (por ejemplo, no coagulada) para el análisis.

Antes de que se realice el análisis sobre la muestra, el cartucho 22 se inserta en el dispositivo de análisis 24 para el análisis de la muestra, la sonda de interfaz de cartucho de muestra 70 se acopla al puerto de controlador de fluido 40 del cartucho 22, y el cartucho 22 se configura para evitar que el flujo de fluido salga del cartucho 22 a través del puerto de recogida de muestras 32; por ejemplo, accionando la válvula cerrada. El orden específico de estos eventos puede disponerse para adaptarse al análisis en cuestión.

En el caso de una muestra de sangre entera que se ha recogido y no se ha analizado inmediatamente, los constituyentes dentro de la muestra de sangre, los glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y plasma pueden, con el tiempo, asentarse y estratificarse dentro del cartucho 22. En tales casos, hay una ventaja considerable en la manipulación de la muestra antes del análisis, de tal manera que los constituyentes se vuelven a suspender en al menos un estado sustancialmente uniforme. Además, en muchas aplicaciones también hay una ventaja considerable en la mezcla uniforme de reactivos con la muestra. Para crear una distribución uniforme de constituyentes y/o reactivos dentro de la muestra, el dispositivo de análisis 24 proporciona una señal al accionador bidireccional 48 para proporcionar un desplazamiento positivo y/o negativo del fluido (por ejemplo, aire) dentro del accionador 48 y

de los conductos de cartucho conectados para hacer que el bolo de muestra se mueva hacia delante o hacia atrás (por ejemplo, oscile) dentro del canal inicial 36. En términos de una realización de tipo de disco de flexión piezoeléctrico del accionador bidireccional 48, el dispositivo de análisis 24 proporciona una señal al controlador 64, que a su vez envía una señal de alta tensión al accionador 48 haciendo que el disco 66 se desvíe. En función de la acción deseada, el disco de dos capas 66 puede operarse para desviar y desplazar positivamente el aire y de este modo mover el bolo de muestra hacia delante (es decir, en una dirección hacia la cámara de análisis 42), o desplazar negativamente el aire y de este modo extraer el bolo de muestra hacia atrás (es decir, en una dirección que se aleja de la cámara de análisis 42), o para oscilar y hacer funcionar en ciclos el bolo de muestra hacia delante y hacia atrás con respecto a una posición específica.

La manera en que el bolo de muestra se manipula dentro del cartucho 22 usando el accionador bidireccional 48 puede seleccionarse para adaptarse al análisis en cuestión. Usando un análisis de muestra de sangre entera como ejemplo, la muestra que reside dentro del canal inicial 36 (ya mezclada con un anticoagulante hasta cierto grado) probablemente se habrá estabilizado y los constituyentes se habrán estratificado en algún grado antes del análisis. Inicialmente, el accionador bidireccional 48 puede operarse para pasar el bolo de muestra entre las posiciones para verificar la posición de la muestra, usando los controles de retroalimentación 76. Una vez que se verifica la localización de la muestra, la muestra puede hacerse funcionar en ciclos de un lado a otro una longitud relativamente corta para volver a suspender uniformemente los constituyentes dentro de la muestra (y/o mezclar uniformemente los reactivos). La frecuencia con la que se hace funcionar en ciclos la muestra y la "amplitud" del desplazamiento de la muestra puede variarse para adaptarse a la aplicación en cuestión. La frecuencia y la amplitud pueden controlarse mediante la selección del accionador bidireccional y las características del controlador. En este punto, la cantidad de manipulación puede seleccionarse para garantizar que no quede nada más que una cantidad inconsecuente (si la hay) del bolo de muestra en el canal inicial 36 cuando la muestra se impulsa más hacia el canal secundario 38. Una vez que el accionador bidireccional 48 se opera para mover el bolo de muestra en el canal secundario 38, la muestra puede hacerse funcionar en ciclos más vigorosamente para lograr la distribución uniforme deseada de los constituyentes dentro de la muestra. Posteriormente, el bolo de muestra puede conducirse a otra posición dentro del canal secundario 38 y hacerse funcionar en ciclos de ida y vuelta en esa posición para mezclar otro reactivo (por ejemplo, el colorante 74) con la muestra.

La velocidad a la que la muestra se mueve axialmente dentro de los canales puede tener un efecto en la cantidad de adsorción que se produce en la pared de la muestra. En los canales de fluido que tienen un diámetro hidrodinámico en el intervalo de 1,0 mm a 4,0 mm, se ha descubierto que una velocidad de muestra de fluido no superior a aproximadamente 20,0 mm/s es aceptable porque da como resultado una adsorción limitada. Se prefiere una velocidad de muestra de fluido no superior a aproximadamente 10,0 mm/s porque da como resultado una menor adsorción. Una velocidad de muestra de fluido dentro de un intervalo de entre 1,0 mm/s y 5,0 mm/s es la más preferida debido a que normalmente da como resultado una cantidad de adsorción intrascendente.

Una vez que se completa la mezcla de la resuspensión y/o del reactivo, el accionador bidireccional 48 se opera para mover el bolo de muestra hacia la parte del canal secundario 38 en comunicación de fluidos con la cámara de análisis 42. En esta posición, una cantidad del bolo de muestra se extrae del canal secundario 38 donde puede, o extraerse o forzarse a entrar en la cámara de análisis 42.

Aunque la invención se ha descrito haciendo referencia a una realización a modo de ejemplo, se entenderá por los expertos en la materia que pueden hacerse diversos cambios y equivalentes pueden sustituirse por elementos de los mismos sin alejarse del alcance de la invención. Además, pueden hacerse muchas modificaciones para adaptar una situación o material específico a las enseñanzas de la invención sin alejarse del alcance esencial de la misma. Por lo tanto, se pretende que la invención no se limite a la realización(es) específica desvelada en el presente documento como el mejor modo contemplado para realizar esta invención.

REIVINDICACIONES

1. Un cartucho de análisis para muestras de fluidos biológicos, que comprende:

5 una carcasa que tiene un canal (36, 38) y una cámara de análisis (42), en la que el canal (36, 38) está en comunicación de fluidos con la cámara de análisis (42), y el canal (36, 38) incluye al menos una superficie de pared interior hidrofóbica;

10 al menos un agente anti-adsorción proporcionado en la carcasa de tal manera que puede mezclarse con la muestra de fluido en el momento en que la muestra se deposita en la carcasa, o posteriormente durante el conducto al interior de la carcasa, en el que el agente anti-adsorción puede mezclarse con la muestra de fluido y puede operarse para inhibir la adsorción de la muestra en la superficie de pared interior del canal (36, 38);

y

15 un depósito de secado de una mezcla aditiva de colorante y disolución, en el que el aditivo de disolución es para facilitar la disolución del colorante dentro de la muestra de fluido.

2. El cartucho de la reivindicación 1, en el que el agente anti-adsorción incluye un agente tensoactivo.

3. El cartucho de la reivindicación 1, en el que el agente anti-adsorción emplea proteínas dentro de la muestra de fluido para disminuir una cantidad de atracción entre las proteínas y la superficie de pared interior.

4. El cartucho de la reivindicación 3, en el que el agente anti-adsorción incluye un agente tensoactivo.

5. El cartucho de la reivindicación 4, en el que las superficies de paredes interiores están al menos parcialmente cubiertas con un recubrimiento hidrofóbico.

6. El cartucho de la reivindicación 1, en el que el aditivo de disolución incluye trehalosa.

7. El cartucho de la reivindicación 1, en el que el aditivo de disolución incluye al menos uno de entre un EDTA o una sustancia que contiene dendrímeros.

8. Un método para analizar una muestra de fluidos biológicos, que comprende las etapas de:

35 proporcionar un cartucho de análisis (22) que tiene un canal (36, 38) y una cámara de análisis (42), en el que el canal (36, 38) está en comunicación de fluidos con la cámara de análisis (42) e incluye al menos una superficie de pared hidrofóbica;

mezclar un aditivo de disolución con un colorante antes de depositar el colorante dentro del cartucho (22), para formar una mezcla aditiva de colorante y disolución, en el que el aditivo de disolución es para facilitar la disolución del colorante dentro de la muestra de fluido;

40 depositar la mezcla aditiva de colorante y disolución dentro del cartucho y permitir que la mezcla se seque;

mezclar uno o más agentes anti-adsorción, y la mezcla aditiva de colorante y disolución, con la muestra de fluido dispuesta dentro del canal (36, 38), en el que los agentes anti-adsorción pueden operarse para inhibir la adsorción de la muestra de fluido en la superficie de pared interior del canal (36, 38);

mover la muestra de fluido en la cámara de análisis (42); y

45 analizar la muestra dentro de la cámara de análisis (42).

9. El método de la reivindicación 8, en el que la etapa de mezclar el agente anti-adsorción con la muestra incluye mezclar un agente anti-adsorción que inhibe la adsorción de la muestra de fluido empleando proteínas dentro de la muestra de fluido para disminuir una cantidad de atracción entre las proteínas y la superficie de pared interior.

50 10. El método de la reivindicación 9, en el que el agente anti-adsorción incluye un agente tensoactivo.

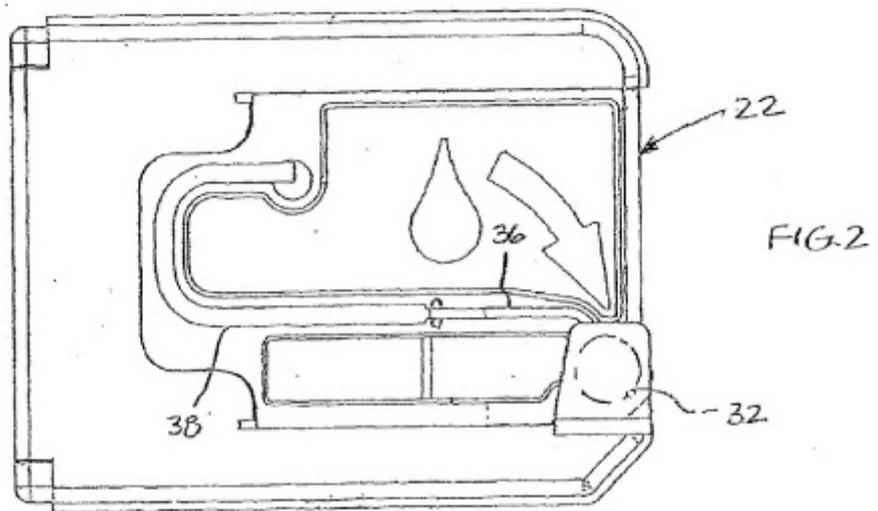
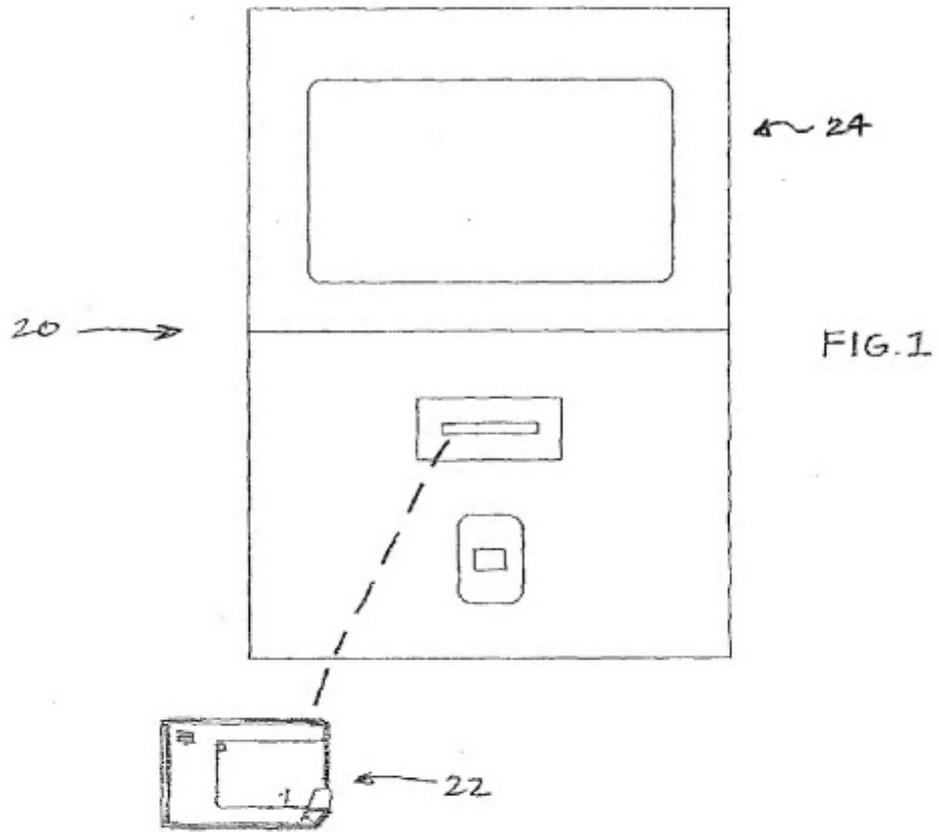
11. El método de la reivindicación 10 o el cartucho de la reivindicación 4, en el que el agente tensoactivo es uno de entre un agente tensoactivo no iónico, catiónico, aniónico, o zwitteriónico.

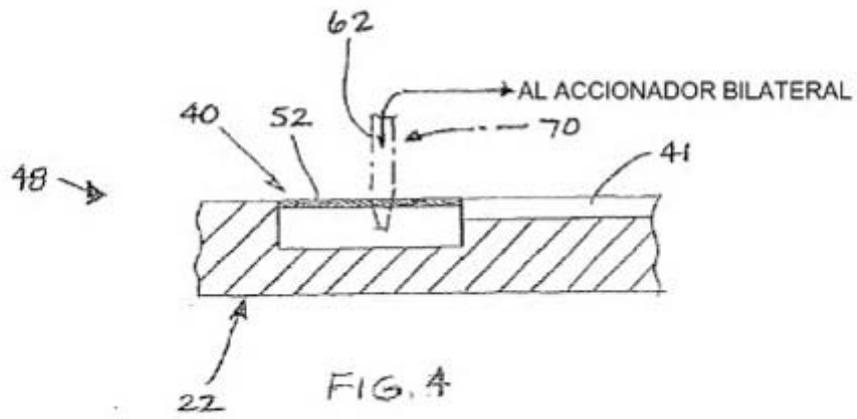
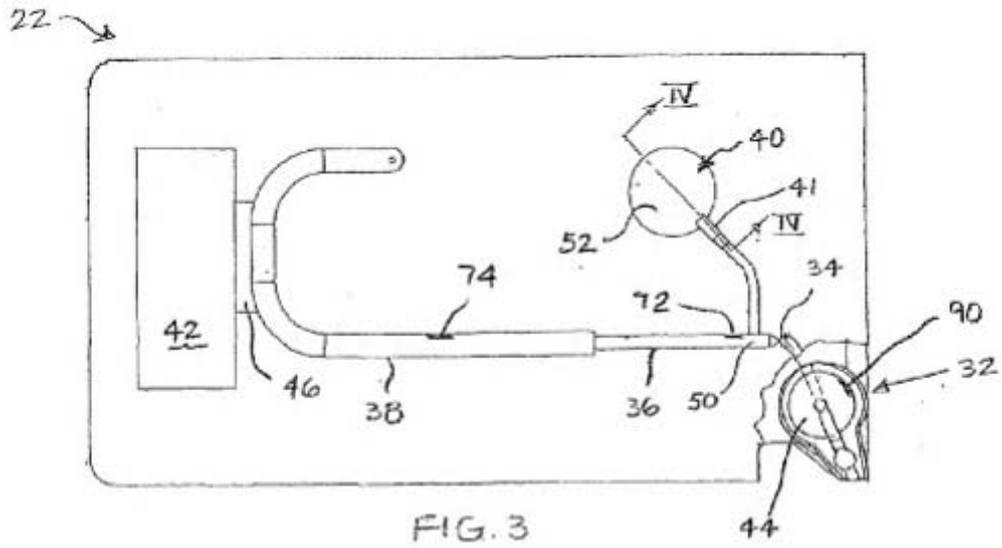
55 12. El método de la reivindicación 11 o el cartucho de la reivindicación 4, en el que el agente tensoactivo es no hemolítico.

60 13. El método de la reivindicación 8, en el que el cartucho de análisis (22) incluye un recubrimiento hidrofóbico aplicado a una o más superficies de paredes interiores para cubrir al menos parcialmente las superficies con el recubrimiento hidrofóbico.

14. El método de la reivindicación 8, en el que la etapa de mover la muestra de fluido incluye mover la muestra dentro del canal (36, 38) de una manera que hace que los constituyentes dentro de la muestra se suspendan en un estado sustancialmente uniforme dentro de la muestra.

65





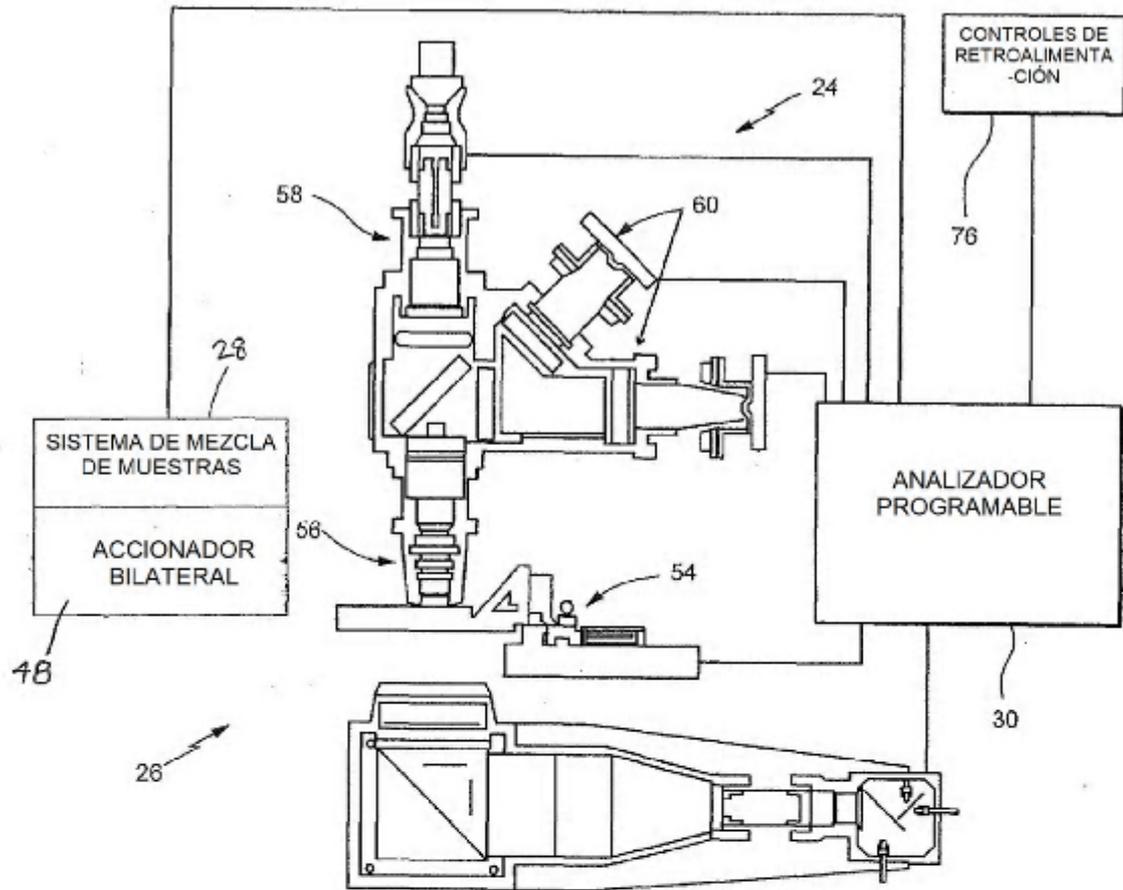


FIG. 5

