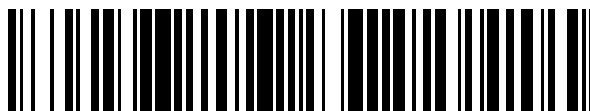


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 695**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

G01N 33/86 (2006.01)

C12Q 1/56 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2012 E 12158003 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2500096**

54 Título: **Dispositivos y procedimientos para determinar la función plaquetaria en un analizador centrífugo**

30 Prioridad:

15.03.2011 EP 11158195

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

28.11.2018

73 Titular/es:

**SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS
PRODUCTS GMBH (100.0%)
Emil-von-Behring-Strasse 76
35041 Marburg, DE**

72 Inventor/es:

**ENDERMANN, JOERG;
ZANDER, NORBERT y
RECHNER, ANDREAS**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 691 695 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

Dispositivos y procedimientos para determinar la función plaquetaria en un analizador centrífugo

La presente invención se basa en el campo del diagnóstico de la coagulación, más precisamente en el campo del diagnóstico de la función plaquetaria y se refiere a dispositivos así como a procedimiento para determinar la función plaquetaria en un analizador centrífugo.

Los procesos fisiológicos que, por un lado, garantizan la fluidez de la sangre en el sistema cardiovascular y, por otro lado, aseguran mediante la formación de coágulos sanguíneos la evitación de hemorragias extravasculares se agrupan bajo la denominación hemostasia. En la regulación de la hemostasia participan múltiples factores proteicos así como también componentes celulares, como por ejemplo los trombocitos (plaquetas). En caso de lesión vascular se produce, en primer lugar, la aposición de trombocitos al colágeno subendotelial. Esta adhesión está mediada por proteína adhesiva, tal como el factor de von Willebrand (VWF). Durante el proceso de adhesión, los trombocitos se activan y liberan mediadores de sus gránulos, con lo cual se induce la agregación de más trombocitos así como una intensificación de la activación. De esta manera tiene lugar un cierre primario de la pared vascular (hemostasia primaria), que solo se estabiliza mediante reacciones adicionales del sistema de coagulación plasmática (hemostasia secundaria). Disregulaciones de estos procesos pueden provocar una trombofilia o una diátesis hemorrágica y en función de la gravedad tener consecuencias potencialmente mortales.

En el diagnóstico de la coagulación se han desarrollado diferentes procedimientos analíticos *in vitro*, con ayuda de los cuales puede determinarse si la sangre de un paciente puede coagularse sin problemas o si hay un trastorno de la coagulación. En el caso de un trastorno de la coagulación se requiere con frecuencia obtener información más precisa acerca del origen del presente trastorno, a fin de poder elegir las medidas terapéuticas óptimas. Una función parcial importante del sistema de coagulación, que puede analizarse de manera dirigida, es la hemostasia primaria, que depende fundamentalmente de la capacidad funcional de los trombocitos.

La determinación de la función plaquetaria o de los trombocitos es una tarea clásica en el diagnóstico de la hemostasia, que es importante en múltiples situaciones clínicas, por ejemplo en la detección temprana de enfermedades cardiovasculares, para el diagnóstico de trastornos adquiridos o congénitos de la función de los trombocitos, para descartar complicaciones por hemorragia antes de intervenciones quirúrgicas o para el seguimiento de terapias antitrombóticas. Se utilizan medicamentos que inhiben la agregación de trombocitos principalmente para la profilaxis y el tratamiento de tromboembolias arteriales, tales como infarto de miocardio o ictus. Los principios activos más generalizados con efecto inhibidor de la agregación de trombocitos son el ácido acetil salicílico (ASS, Aspirina®) y las tienopiridinas clopidogrel y ticlopidina.

En el estado de la técnica se conocen diferentes procedimientos para analizar la función de los trombocitos. La determinación del tiempo de sangría es un análisis completo *in vivo*, que detecta la hemostasia primaria. El tiempo de sangría se determina provocándole al paciente una pequeña herida cortante o punzante y midiendo el tiempo hasta que se detenga la hemorragia. Se trata de un análisis difícil de estandarizar, que aporta información aproximada, que se aplica sobre todo en situaciones de emergencia, para obtener una información general acerca de la hemostasia primaria. La ingesta de inhibidores de la agregación de trombocitos lleva a un alargamiento del tiempo de sangría. En la determinación del tiempo de sangría resulta desventajoso que, para un tiempo de sangría normal, no puede descartarse el trastorno de la función de los trombocitos.

Diferentes procedimientos *in vitro* hacen posible una comprobación fundamentalmente más sensible de los trastornos de la función de los trombocitos. En estos procedimientos se induce habitualmente en una muestra de sangre entera o en una muestra de plasma rico en plaquetas (PRP) la agregación de los trombocitos mediante adición de un activador y/o ejerciendo fuerzas de cizallamiento y midiendo la reacción de agregación. Los activadores generalmente usados, que se usan para la inducción de la agregación de los trombocitos, son: ADP (adenosin-5'-difosfato), colágeno, epinefrina (adrenalina), ristocetina y diversas combinaciones de los mismos así como trombina, TRAP (*Thrombin-Receptor-Activating-Protein*, proteína activadora del receptor de trombina) o serotonina. Para ejercer fuerzas de cizallamiento *in vitro*, que son un desencadenante importante de la agregación de trombocitos *in vivo*, se aplican diferentes procedimientos, como por ejemplo la agitación de la muestra de plaquetas o conducir o hacer pasar la muestra de plaquetas por cánulas o aberturas de diámetro reducido.

En la agregometría por transmisión de luz (LTA) clásica, que también se denomina agregación plaquetaria según Born, se mide fotométricamente la capacidad de agregación de los trombocitos en el plasma rico en plaquetas en presencia de sustancias que inducen la agregación en un agregómetro. Debido a la formación de agregado se aumenta la translucidez de la muestra de PRP, de modo que mediante la medición de la translucidez puede determinarse, por ejemplo, la velocidad de formación de agregado. Con ayuda la agregometría por transmisión de luz pueden detectarse también efectos terapéuticos de inhibidores de la agregación de los trombocitos utilizados como medicamento. Una desventaja de la agregometría por transmisión de luz es que puede usarse exclusivamente plasma rico en plaquetas como material de muestra. Al plasma rico en plaquetas no solo le faltan componentes importantes de la sangre, como por ejemplo los glóbulos rojos y blancos, sino que requiere además una preparación

de la muestra que lleva tiempo y es propensa a errores.

El sistema VerifyNow® (Accumetrics) es un perfeccionamiento de la agregometría por transmisión de luz, que hace posible analizar la función de los trombocitos en muestras de sangre entera. En este sistema se intensifica la reacción de agregación de los trombocitos mediante la adición de micropartículas recubiertas con fibrinógeno.

- 5 Un principio de análisis totalmente distinto para determinar la función de los trombocitos se materializa en el Platelet Function Analyzer (PFA-100®, PFA-200 Siemens Healthcare Diagnostics). A este respecto, se trata de un análisis de sangre entera *in vitro* global, automatizado y estandarizado, en el que se mide la hemostasia primaria en condiciones de flujo y por tanto en presencia de elevadas fuerzas de cizallamiento. Para la simulación del as
10 condiciones de flujo y las fuerzas de cizallamiento, tales como las que reinan en vasos sanguíneos arteriales pequeños, se genera en una celda de medición especial una presión negativa de aproximadamente -40 mbar y la sangre entera citratada, que se encuentra en un depósito de muestra, fluye a través de un capilar, que tiene un diámetro de aproximadamente 200 µm. El capilar desemboca en una cámara de medición que está cerrada con un elemento separador, por ejemplo una membrana, que contiene una abertura central capilar (orificio), a través de la cual pasa la sangre debido a la presión negativa. En la mayoría de los casos, a la membrana se le añaden, al menos
15 en el área alrededor del orificio, uno o varios activadores, que inducen la agregación de trombocitos, de modo que la sangre que fluye pasando por la misma entra en contacto con las sustancias que inducen la agregación en el área del orificio. Como consecuencia de la adhesión y agregación inducida de los trombocitos se forma en el área del orificio un tapón plaquetario (trombo), que cierra la abertura de la membrana y detiene el flujo de sangre. En este sistema se mide el tiempo que se tarda en cerrar la abertura de la membrana. Este denominado tiempo de cierre se correlaciona con la capacidad funcional de los trombocitos. Una celda de medición para su uso en un procedimiento para la determinación de la función de los trombocitos con ayuda del tiempo de cierre se describe, por ejemplo, en el documento 97/34698. Se usan, por ejemplo, celdas de medición que están equipadas con una membrana que está recubierta con colágeno (col) y además o bien con ADP o bien con epinefrina (epi). Se describen diversos elementos separadores así como su fabricación y uso, por ejemplo, en el documento WO 96/00899 A1.
- 20
- 25 Otro principio de análisis más para determinar la función de los trombocitos se basa en el paso forzado de sangre o plasma rico en plaquetas por un filtro.

- Uchiyama, S. et al. (Thrombosis Research 31: 99-116, 1983) describen el análisis denominado Filter Bleeding Time (FBT). Con este procedimiento se conduce sangre entera a presión constante (aprox. 150 mm Hg) por un filtro de fibras de poliéster (Dacron®). Los agregados de plaquetas obstruyen los poros del filtro y disminuyen el caudal. El tiempo de sangría FBT es el tiempo que pasa desde el comienzo del flujo hasta el momento en que el caudal cae a por debajo de menos de una gota cada 30 segundos.
- 30

- En el documento GB 2175691 A se describe un perfeccionamiento del análisis FBT según Uchiyama et al. En este caso se hace pasar una muestra de sangre entera por medio de sobrepresión por un filtro compuesto por un tejido de fibras. El filtro presenta poros de diferente tamaño y permite el paso de partículas de un diámetro de hasta 10 µm. Esto hace que la muestra pueda empujarse con presiones inferiores de solo 20 a 100 mm Hg por el filtro. Los agregados de trombocitos más grandes obstruyen los poros y bloquean cada vez más el paso de material de la muestra. La determinación del caudal o la comparación del número de plaquetas en el eluato filtrado con el número de plaquetas en la muestra no filtrada permiten sacar conclusiones acerca de la capacidad de agregación de las plaquetas y, por tanto, acerca de la función de los trombocito.
- 35

- Otro procedimiento para determinar la función de los trombocitos, que se basa en el principio del paso forzado de sangre o plasma rico en plaquetas por un filtro, es el denominado análisis de retención de Homburg (RTH) (Krischek, B. et al., Seminars in Thrombosis and Hemostasis 31(4): 449-457, 2005; Krischek, B. et al., Seminars in Thrombosis and Hemostasis 31(4): 458-463, 2005). En este procedimiento se hace pasar sangre entera o plasma rico en plaquetas por medio de fuerza centrífuga (10 minutos a 110×g) por una unidad de filtro Porex®, que presenta una altura de 2,3 mm y un tamaño de poro de 16-22 µm. Se determina la diferencia entre el número de plaquetas antes y después de pasar la muestra por el filtro y se calcula el índice de retención (IR %). Una retención disminuida de plaquetas en el filtro indica una pérdida de la función plaquetaria. Una retención aumentada de plaquetas en el filtro indica una actividad plaquetaria aumentada.
- 40
- 45

- En los dos últimos procedimientos mencionados resulta desventajoso que, además de la propia realización del análisis tiene que determinarse en cada muestra dos veces el número de plaquetas. Para ello se requieren, en primer lugar, aparatos de análisis especiales y, en segundo lugar, tiene que procesarse cada muestra varias veces.
- 50

- Diversos aparatos disponibles en el mercado para el diagnóstico automático de la coagulación (analizadores de la coagulación) comprenden una unidad de centrifugación. Esta se compone, habitualmente, de un rotor de cubetas, en el que está dispuesta una unidad espectrofotométrica, de modo que las muestras pueden medirse fotométricamente durante la rotación del rotor de cubetas. Por tanto es especialmente deseable proporcionar un procedimiento para el diagnóstico de trombocitos, que pueda realizarse en los aparatos existentes, que presentan
- 55

una unidad de centrifugación.

La presente invención se basó, por tanto, en el objetivo de proporcionar un dispositivo y un procedimiento para determinar la función de los trombocitos que posibilite una determinación fiable, sencilla y rápida de la función de los trombocitos en un analizador centrífugo.

- 5 Este objetivo se consigue mediante las características técnicas de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes indican otras formas de realización de la invención.

La presente invención se refiere a una celda de medición para determinar la función de los trombocitos, comprendiendo la celda de medición los siguientes componentes:

- 10 a) una primera cámara para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos,
 b) una segunda cámara, que recoge la muestra de líquido procedente de la primera cámara, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición, y
 c) un elemento separador poroso, que separa la primera y segunda cámara entre sí,

y conteniendo el elemento separador al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos.

Los términos "trombocitos" y "plaquetas" se usan como sinónimos.

- 15 Por el término "muestra de líquido con contenido en trombocitos" se entiende una muestra líquida que contiene trombocitos humanos o animales, en particular sangre entera, plasma rico en plaquetas (PRP) u otros preparados plaquetarios. Preferentemente, la muestra de sangre entera es sangre humana o animal anticoagulada venosa, recién extraída. Preferentemente, la sangre entera se anticoagula mediante adición de un anticoagulante. Son aptos para ser usados como anticoagulantes soluciones de citrato tamponadas de unión a calcio, como por ejemplo
 20 soluciones de citrato de calcio tamponadas al 3,2 o 3,8 %, EDTA, heparina así como inhibidores de trombina directos naturales o sintéticos, como por ejemplo hirudina, PPACK (D-fe-pro-arg-clorometilcetona, HCl), argatrobán y melagatrán, o inhibidores del factor Xa directos naturales o sintéticos, como por ejemplo antistasín, péptido anticoagulante de garrapata, yagina, draculina, GGACK (H-glu-glu-arg-clorometilcetona), inhibidores del factor Xa de tipo diamidina e inhibidores del factor Xa de tipo mono-benzamidina.

- 25 Por el término "elemento separador poroso" se entiende un elemento separador que separa totalmente la primera y segunda cámara entre sí y que se compone de un material que permite el paso de celdas sanguíneas individuales, pero que impide el paso de agregados celulares, en particular de agregados de trombocitos de trombocitos activados. Para ello, el material presenta preferentemente un tamaño de poro de 2 - 20 μm , de manera especialmente preferente de 5 μm . Asimismo, el elemento separador está íntegro, es decir está libre de
 30 perforaciones, incisiones u orificios de cualquier tipo.

El elemento separador poroso contiene al menos una sustancia que influye en la actividad de los trombocitos, la cual, cuando se pone en contacto una muestra de líquido con contenido en trombocitos con el elemento separador, es soluble en la muestra de líquido.

- 35 Preferentemente, el elemento separador está configurado en forma de membrana. El material preferido es absorbente de líquidos, de modo que las sustancias que influyen en la actividad de los trombocitos pueden aplicarse en forma disuelta. Materiales especialmente preferidos son ésteres de celulosa, cerámica, nailon, polipropileno, poliétersulfona y poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF). Preferentemente se seca el elemento separador poroso mojado o impregnado con las sustancias deseadas. Mediante el contacto de la muestra de líquido con el elemento separador se disuelven las sustancias a partir del o desde el elemento separador y se mezclan con la muestra con
 40 contenido en trombocitos.

El término "la sustancia que influye en la actividad de los trombocitos" abarca sustancias que pueden inducir o inhibir la agregación de trombocitos.

- 45 En una forma de realización, el elemento separador poroso contiene al menos un activador de trombocitos, preferentemente del grupo ADP (adenosina-5'-difosfato), 2-MeSADP (2-metiloadenosina-5'-difosfato), colágeno, epinefrina, ristocetina, trombina, TRAP (*Thrombin-Receptor-Activating-Protein*, proteína activadora del receptor de trombina), ácido araquidónico, U46619 (ácido (Z)-7-[(1S,4R,5R,6S)-5-[(E,3S)-3-hidroxioc-1-enil]-3-oxabicyclo[2.2.1]heptan-6-ol]hept-5-enólico), PMA (forbol 12-miristato 13-acetato) y serotonina.

En otra forma de realización, el elemento separador poroso contiene al menos un inhibidor de trombocitos, preferentemente del grupo prostaglandina E1 (PGE 1), prostaglandina I2, forskolina, iloprost y cicaprost.

En otras formas de realización, en el elemento separador pueden estar incluidas una o varias sustancias del grupo de los activadores de trombocitos y del grupo de los inhibidores de trombocitos. Así pues, es adecuada, por ejemplo, la combinación de ADP y PGE 1 especialmente para determinar la actividad de los trombocitos en muestras que proceden de pacientes tratados con un agente terapéutico antitrombótico del grupo de los antagonistas de P2Y(12), como por ejemplo clopidogrel o ticlopidina. El experto en la técnica sabe qué sustancias o qué combinaciones de sustancias puede usar para determinar la actividad de los trombocitos.

Preferentemente, la celda de medición de acuerdo con la invención es un cuerpo hueco de una sola pieza, preferentemente cilíndrico o cónico, en el que está insertado de manera ajustada un elemento separador poroso, de modo que el elemento separador separa totalmente la primera y segunda cámara entre sí, es decir a lo largo de todo el diámetro del cuerpo hueco. Preferentemente, el cuerpo hueco de una sola pieza es un tubito con un diámetro interior de aproximadamente 100 μm a 1 cm. La primera cámara sirve para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos y presenta, para ello, una abertura. La segunda cámara sirve para recoger la muestra de líquido procedente de la primera cámara, que sale por el elemento separador, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición.

Alternativamente, la celda de medición de acuerdo con la invención puede ser un recipiente de reacción en dos piezas, que se compone de un primer cuerpo hueco abierto por un lado, que forma la segunda cámara, y un segundo cuerpo hueco abierto por los dos lados, que forma la primera cámara. Los dos componentes de cuerpo hueco están unidos de tal modo que una abertura del segundo componente está dispuesta sobre la abertura del primer componente. El elemento separador poroso se coloca o bien exactamente entre ambos componentes o bien en la abertura del primer componente o bien en la abertura del segundo componente orientada hacia el primer componente.

El recipiente de reacción de una sola pieza o los componentes del recipiente de reacción de varias piezas se componen preferentemente de un material transparente, preferentemente de plástico o de vidrio.

Una forma de realización preferida de la celda de medición de acuerdo con la invención presenta en el interior de la segunda cámara –que, visto desde el elemento separador poroso, presenta a lo largo de su eje longitudinal una mitad proximal y una mitad distal– un medio que divide el volumen de la segunda cámara en una primera subárea y una segunda subárea. La primera subárea sirve para recoger y redirigir el líquido de muestra que atraviesa el elemento separador. La redirección del líquido de muestra tiene lugar de la mitad proximal a la distal de la segunda cámara. La segunda subárea sirve para medir la cantidad de líquido del líquido de muestra que se recoge en la segunda cámara. La primera y la segunda subárea están, en la mitad distal de la segunda cámara, en comunicación la una con la otra, de modo que el líquido de muestra recogido y redirigido puede salir de la primera subárea hacia la segunda subárea. La división del volumen de la segunda cámara en una primera subárea (área de alojamiento) y una segunda subárea (área de medición) tiene la ventaja de que el líquido de muestra que pasa por el elemento separador durante la centrifugación no moja de forma incontrolada toda la segunda cámara, lo que podría dar lugar a una alteración en la medición del nivel de llenado o de otro parámetro en la segunda cámara de medición. La división del volumen de la segunda cámara en una primera subárea (área de alojamiento) y una segunda subárea (área de medición) garantiza que el líquido de muestra sea recogido, acumulado y redirigido de manera controlada al área distal de la segunda cámara, con lo cual se garantiza que el líquido de muestra se acumule en la segunda subárea (área de medición) de abajo (distal) hacia arriba (proximal) en la punta de la celda de medición.

El medio para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera y una segunda subárea puede estar configurado de diversas formas.

En una forma de configuración sencilla, el medio para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera y una segunda subárea puede presentar un plano inclinado con respecto al elemento separador poroso o componerse únicamente de una rampa continua con un plano inclinado, que llega desde la mitad proximal a la mitad distal de la segunda cámara.

En otra forma de configuración, el medio para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera y una segunda subárea presenta una primera sección que presenta un plano inclinado con respecto al elemento separador poroso y una segunda subsección que sigue a la primera subsección y que discurre esencialmente en paralelo a una pared que delimita el volumen de la segunda cámara y que forma con esta una estructura tubular, que llega hasta la mitad distal de la segunda cámara. Esta forma de configuración tiene la ventaja de que la primera subárea de la segunda cámara (área de alojamiento) se reduce a un mínimo del volumen de la segunda cámara, de modo que está disponible el mayor volumen posible de la segunda cámara para la segunda subárea (área de medición). Esto tiene, por ejemplo, la ventaja de que para eventuales dispositivos de medición, que se disponen en la celda de medición, hay disponible un máximo de superficie disponible.

En otra forma de configuración, el medio para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera y una segunda subárea está configurado en forma de embudo, y el área tubular del medio en forma de embudo llega hasta

la mitad distal de la segunda cámara.

Una forma de realización de una celda de medición que presenta un medio para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera y una segunda subárea puede estar configurada de modo que la segunda subárea de la segunda cámara (área de medición) presenta medios para la medición eléctrica del nivel de llenado, preferentemente varios pares de electrodos.

Otra forma de realización de una celda de medición de acuerdo con la invención presenta un medio para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera, una segunda y una tercera subárea. La primera subárea (área de alojamiento) sirve para recoger y redirigir el líquido de muestra que atraviesa el elemento separador, a lo largo del eje longitudinal de la segunda cámara desde la mitad proximal a la distal. La primera subárea está, en la mitad distal de la segunda cámara, en comunicación con la segunda subárea, de modo que el líquido de muestra recogido y redirigido puede salir de la primera subárea hacia la segunda subárea. La segunda subárea (área de medición) sirve para medir la velocidad de flujo del líquido de muestra que se recoge en la segunda cámara. La segunda subárea (área de medición) tiene la forma de un capilar, que sube desde la mitad distal en dirección a la mitad proximal de la segunda cámara y que presenta en su extremo una abertura que establece una comunicación con la tercera subárea. La tercera subárea (área de rebosadero) sirve como rebosadero para el líquido de muestra procedente de la segunda subárea. Esta forma de realización de una celda de medición es adecuada especialmente para la determinación de la función de los trombocitos con ayuda de la medición de la velocidad de flujo del líquido de muestra.

Otro objeto de la presente invención se refiere a un dispositivo para un analizador centrífugo, que presenta al menos dos celdas de medición de acuerdo con la invención. Un dispositivo de este tipo puede presentar, dependiendo de la configuración, hasta 100 celdas de medición. La ventaja de un dispositivo de este tipo radica en que pueden efectuarse varias determinaciones de la función de los trombocitos de manera simultánea. A este respecto pueden determinarse o bien varias alícuotas de una muestra o bien alícuotas de diferentes muestras al mismo tiempo. Las diversas celdas de medición pueden ser o bien del mismo tipo, por lo que respecta a su forma constructiva o por lo que respecta al recubrimiento de los elementos separadores con las sustancias que influyen en la actividad de los trombocitos, o bien de tipo diferente.

En una forma de realización de un dispositivo para un analizador centrífugo, que presenta al menos dos celdas de medición de acuerdo con la invención, se trata de un disco, sobre el cual están dispuestas las celdas de medición en forma de arco de círculo y radialmente. Un dispositivo de este tipo se denomina también, a continuación, rotor de celdas de medición.

En una forma de realización especial de un rotor de celdas de medición, las celdas de medición no presentan a lo largo de su eje longitudinal una forma recta, sino curva. Esto tiene la ventaja de que en las celdas de medición reinan condiciones de flujo constantes durante la rotación del rotor de celdas de medición. Preferentemente, al menos el área de una celda de medición que contiene el elemento separador tiene un diámetro inferior al del resto de áreas de la celda de medición. Preferentemente, esta área tiene un diámetro de aproximadamente 50 a 500 μm .

Un rotor de celdas de medición de acuerdo con la invención puede componerse, por ejemplo, de plástico traslúcido y/o estar compuesto por una parte superior y una parte inferior. Los lados de la parte superior e inferior, orientados el uno hacia el otro en el rotor de celdas de medición montado, pueden presentar escotaduras y/o elevaciones, que conforman entonces las formas deseadas de las celdas de medición. La parte superior contiene para cada celda de medición un orificio para pipeteado, a través del cual puede introducirse el material de la muestra en la primera cámara de una celda de medición. El elemento separador poroso puede insertarse, antes de que se ensamblen la parte superior e inferior, o bien como unidad individual por separado en cada celda de medición o bien en forma de una tira continua de material poroso adecuado, que se dispone concéntricamente entre la parte superior e inferior y recorre así todas las celdas de medición del rotor. El recubrimiento del material poroso con una o varias sustancias que influyen en la actividad de los trombocitos puede realizarse o bien antes de la inserción de los elementos separadores independientes o de la tira continua o *in situ*, es decir cuando los elementos separadores o la tira ya se han unido a la parte superior o inferior.

Un rotor de celdas de medición, que se compone al menos parcialmente de un material transparente, hace posible la medición de la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara o la medición de la velocidad de flujo del líquido de muestra a través del elemento separador por medio de procedimiento fotométrico. Preferentemente, para ello están previstas por encima del rotor de celdas de medición una o varias fuentes luminosas, preferentemente diodos emisores de luz (LED), y por debajo del rotor de celdas de medición detectores de luz correspondientes en cada caso, o a la inversa, de modo que la luz puede irradiarse perpendicularmente al plano de rotación a través de las áreas de medición de las celdas de medición.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para determinar la función de los trombocitos, en el que se usa una celda de medición de acuerdo con la invención o un dispositivo que comprende al menos dos celdas de

medición de acuerdo con la invención. El procedimiento comprende al menos las siguientes etapas:

- i. llenar la primera cámara de una celda de medición de acuerdo con la invención con una muestra de líquido con contenido en trombocitos,
- ii. ejercer una fuerza centrífuga sobre la celda de medición con la muestra de líquido,
- 5 iii. medir la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara o medir la velocidad de flujo del líquido de muestra a través del elemento separador.

La cantidad de líquido (o el volumen de líquido) que sale, como consecuencia de la acción de la fuerza centrífuga, de la primera cámara a través del elemento separador y se recoge en la segunda cámara se correlaciona inversamente con la función de los trombocitos.

- 10 También la velocidad de flujo del líquido de muestra que sale a través del elemento separador y se recoge en la segunda cámara se correlaciona inversamente con la función de los trombocitos.

- 15 Cuantos menos trombocitos se agreguen debido a una función de los trombocitos restringida y cuanto menos se obstruyan los poros del elemento separador, más líquido de muestra podrá atravesar en un periodo de tiempo dado el elemento separador y mayor será la velocidad de flujo o el caudal y, por ende, la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara.

Cuantos más trombocitos se agreguen debido a una función de los trombocitos intensificada y cuanto más se obstruyan los poros del elemento separador, menos líquido de muestra podrá atravesar en un periodo de tiempo dado el elemento separador y menor será la velocidad de flujo o el caudal y, por ende, la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara.

- 20 Preferentemente, la fuerza centrífuga que se ejerce de acuerdo con la invención sobre la celda de medición se sitúa en un intervalo de $50 - 2.000 \times g$. La fuerza centrífuga puede ejercerse con ayuda una unidad de centrifugación convencional.

La medición de la cantidad de líquido que atraviesa el elemento separador y se recoge en la segunda cámara puede realizarse de diferentes maneras.

- 25 En una primera forma de realización, la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara se determina fotométricamente. Para ello, al menos una subsección de la segunda cámara de la celda de medición de acuerdo con la invención se compone de un material traslúcido. Además, a lo largo del eje longitudinal de la segunda cámara y en perpendicular al plano de rotación de la celda de medición de acuerdo con la invención o del rotor de celdas de medición de acuerdo con la invención están dispuestas varias fuentes luminosas, preferentemente diodos emisores de luz (LED) y detectores de luz correspondientes en cada caso. Durante la medición, las fuentes luminosas emiten luz, cuya intensidad I se mide por el detector asociado en cada caso a una fuente luminosa. Si entre la fuente luminosa y el detector se encuentra líquido de muestra, la intensidad de la luz disminuye. La extinción $E = -\log(I/I_0)$ (I_t = intensidad luminosa en el instante t , I_0 = intensidad luminosa en el instante 0) es proporcional a la cantidad de material absorbente entre fuente luminosa y detector. El posicionamiento relativo de las fuentes luminosas con respecto al eje longitudinal de la segunda cámara permite concluir el volumen de muestra que ha fluido por la capa de separación. El número de pares de fuentes luminosa/detector establece la discriminación de diferentes volúmenes. En el caso más sencillo ($n=3$) solo puede concluirse digitalmente si es normal o patológico, con $n=6$ hay 5 posibles discriminaciones de volumen. Se determina si la extinción en un lugar dado es mayor que un valor umbral prestablecido (líquido de muestra en la trayectoria óptica) o menor que este valor umbral (aire en la trayectoria óptica). Entre la distancia de un detector con respecto al fondo del recipiente y la cantidad de líquido en el recipiente existe una relación sencilla. Si un detector se encuentra a una distancia h del fondo de un recipiente cilíndrico de radio r , una alta extinción significa una cantidad de líquido mínima en el recipiente de $r^2\pi h$. La medición de la extinción a lo largo del tiempo hace posible una determinación de la cantidad de líquido en función del tiempo: $V = V(t)$. Mediante derivación matemática de la cantidad de líquido total según el tiempo ($d/dt V(t)$) se obtiene una determinación de la velocidad del caudal en función del tiempo.
- 30
- 35
- 40
- 45

- 50 En una segunda forma de realización, la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara se determina eléctricamente. Para ello están dispuestos en la segunda cámara de prueba varios pares de electrodos de diferente longitud para identificar el nivel de llenado. Cuanto mayor sea el volumen de líquido en la segunda cámara, más electrodos harán contacto con el líquido de muestra. Entre la distancia de un electrodo con respecto al fondo del recipiente y la cantidad de líquido en el recipiente existe una relación sencilla. El número de electrodos establece la discriminación de diferentes volúmenes. En el caso más sencillo ($n=3$) solo puede concluirse digitalmente normal o patológico, con $n=6$ hay 5 posibles discriminaciones de volumen. En el caso más sencillo se mide a través de la conductividad (medición óhmica). Si se encuentra aire entre los electrodos, entre los cuales hay tensión de trabajo, no fluye corriente, ya que el aire es un aislante eléctrico. Sin embargo, si se llena la cámara con líquido de muestra, puede cerrarse el circuito de corriente respectivo entre electrodos, ya que la sangre o plasma son eléctricamente
- 55

conductores debido a las sales disueltas.

5 En una tercera forma de realización, la velocidad de flujo se determina por medio de anemometría por láser Doppler (LDA). Para ello existe al menos una subsección de la segunda cámara de la celda de medición de acuerdo con la invención de un material traslúcido. Un haz de láser se divide en dos haces, que se orientan de tal modo que se cruzan en un área de la segunda cámara. En el punto de medición, donde se cruzan los haces, aparece un patrón de interferencia. Un detector mide las dos ondas dispersadas, que se generan por el líquido de muestra que fluye. La señal de medición es una superposición de ambas ondas dispersadas, con lo cual se produce un batimiento provocado por el efecto Doppler, cuya frecuencia (frecuencia Doppler) es proporcional a la velocidad del líquido de muestra que fluye.

10 La medición de la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara puede realizarse de manera continua a lo largo de un periodo de tiempo dado. Para ello se mide el flujo en función del tiempo a través del elemento separador.

15 Alternativamente, la medición de la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara puede realizarse una vez en un momento dado. Por ejemplo, la medición puede realizarse a través de una determinación del punto final. Para ello se determina la cantidad de líquido total que ha pasado por el elemento separador en un momento determinado.

20 La determinación de la función de los trombocitos en una muestra desconocida se realiza preferentemente mediante la comparación del resultado de medición de la muestra con el resultado de medición para uno o varios controles con una actividad de trombocitos conocida. Preferentemente, los controles/calibradores se componen de un grupo de donaciones de sangre/plasma de personas sanas. A partir de los resultados de medición determinados para las muestras de este grupo, se determina preferentemente la mediana y el resultado de medición de una muestra desconocida se pone en relación con la misma.

25 Puesto que la cantidad de líquido de muestra que atraviesa el elemento separador es inversamente proporcional a la función de los trombocitos, el valor inverso de la cantidad de líquido recogida en la segunda cámara $V (1 / V)$ es especialmente adecuado como medida de la función de los trombocitos. Si el valor inverso $1 / V$ de una muestra desconocida se sitúa por debajo de un valor límite mediano previamente determinado, se trata de una muestra con función de los trombocitos restringida y un riesgo de hemorragia. Si el valor inverso $1 / V$ de una muestra desconocida se sitúa por encima de un valor límite mediano previamente determinado, se trata de una muestra con función de los trombocitos intensificada y un riesgo de trombosis.

30 **Descripción de las figuras**

La presente invención se explica de manera más detallada mediante las figuras que se muestran y comentan a continuación. A este respecto cabe observar que las figuras solo tienen un carácter descriptivo y no están concebidas para limitar la invención en forma alguna.

35 **Figura 1**

La figura 1 muestra una forma de realización de una celda de medición (1) de acuerdo con la invención. La celda de medición (1) comprende una primera cámara (11) para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos y una segunda cámara (12), que recoge la muestra de líquido procedente de la primera cámara, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición. La celda de medición comprende además un elemento separador (13) poroso, que separa la primera y segunda cámara entre sí a lo largo de todo el diámetro del cuerpo hueco. El elemento separador (13) contiene al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos.

40 **Figura 2**

45 La figura 2 muestra otra forma de realización de una celda de medición (2) de acuerdo con la invención. La celda de medición (2) comprende una primera cámara (21) para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos y una segunda cámara (22) que recoge la muestra de líquido procedente de la primera cámara, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición. La celda de medición comprende, además, un elemento separador (23) poroso, que separa la primera y segunda cámara entre sí a lo largo de todo el diámetro del cuerpo hueco. El elemento separador (23) contiene al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos.

55 Asimismo, la celda de medición (2) mostrada en este caso dispone, en la segunda cámara (22), de un medio (24), en forma de un elemento en forma de rampa, para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera subárea (221) y una segunda subárea (222).

La primera subárea (221) sirve para recoger y redirigir el líquido de muestra que atraviesa el elemento separador. La segunda subárea (222) sirve para medir la cantidad de líquido del líquido de muestra (29) que se recoge en la segunda cámara (22). La primera y segunda subárea están, en la mitad distal de la segunda cámara (es decir por debajo de la línea discontinua), en comunicación la una con la otra, de modo que el líquido de muestra recogido y redirigido solo puede salir, en la proximidad de la punta de la celda de medición, de la primera subárea hacia la segunda subárea. Esto tiene la ventaja de que el líquido de muestra que pasa por el elemento separador (23) durante la centrifugación no moja de manera incontrolada toda la segunda cámara (24), sino que el líquido de muestra se recoge, acumula y redirige de manera controlada al área distal de la segunda cámara. El líquido de muestra (29) así redirigido se acumula en la segunda cámara (22), en particular en la segunda subárea (222) de la segunda cámara (22), de abajo (distal) hacia arriba (proximal) en la punta de la celda de medición. Asimismo, la celda de medición (2) mostrada en este caso dispone de electrodos (25) de diferente longitud para identificar el nivel de llenado. Cuanto más suba el nivel de líquido en la segunda cámara (22), en particular en la segunda subárea (222) de la segunda cámara (22), más electrodos harán contacto con el líquido de muestra.

Figura 3

La figura 3 muestra otra forma de realización de una celda de medición (3) de acuerdo con la invención. La celda de medición (3) comprende una primera cámara (31) para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos y una segunda cámara (32) que recoge la muestra de líquido procedente de la primera cámara, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición. La celda de medición comprende, además, un elemento separador (33) poroso, que separa la primera y segunda cámara entre sí a lo largo de todo el diámetro del cuerpo hueco. El elemento separador (33) contiene al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos.

Asimismo, la celda de medición (3) mostrada en este caso dispone, en la segunda cámara (32), de un medio (34) para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera subárea (321) y una segunda subárea (322).

El medio (34) para dividir el volumen de la segunda cámara (32) en una primera y una segunda subárea presenta una primera sección (341), que presenta un plano inclinado con respecto al elemento separador poroso. El medio (34) presenta, además, una segunda subsección (342) que sigue a la primera subsección (341), que discurre esencialmente en paralelo a una pared (36) que delimita el volumen de la segunda cámara (32) y forma con esta una estructura tubular, que llega hasta la mitad distal de la segunda cámara (32). Esta forma de configuración tiene la ventaja de que la primera subárea (321) de la segunda cámara, el área de alojamiento, se reduce a un mínimo del volumen de la segunda cámara (32), de modo que un volumen lo más grande posible de la segunda cámara (32) está disponible para la segunda subárea (322), el área de medición. Esto tiene, por ejemplo, la ventaja de que para eventuales dispositivos de medición que se disponen en la celda de medición hay disponible un máximo de superficie disponible.

Además, la celda de medición (3) mostrada en este caso dispone de electrodos (35) de diferente longitud para la identificación del nivel de llenado. Cuanto más suba el nivel de líquido en la segunda cámara (32), en particular en la segunda subárea (322) de la segunda cámara (32), más electrodos harán contacto con el líquido de muestra (39).

Figura 4

La figura 4 muestra otra forma de realización de una celda de medición (4) de acuerdo con la invención. La celda de medición (4) comprende una primera cámara (41) para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos y una segunda cámara (42) que recoge la muestra de líquido procedente de la primera cámara, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición. La celda de medición comprende además un elemento separador (43) poroso, que separa la primera y segunda cámara entre sí a lo largo de todo el diámetro del cuerpo hueco. El elemento separador (43) contiene al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos.

Asimismo, la celda de medición (4) mostrada en este caso dispone, en la segunda cámara (42), de un medio (44) para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera subárea (421) y una segunda subárea (422).

El medio (44) para dividir el volumen de la segunda cámara (42) en una primera y una segunda subárea está configurado en este caso en forma de embudo, y el área tubular del medio en forma de embudo llega hasta la mitad distal de la segunda cámara (42).

La celda de medición (4) mostrada en la figura 4A dispone de electrodos (45) de diferente longitud para identificar el nivel de llenado. En la celda de medición (4) mostrada la figura 4B, las paredes de la celda de medición y al menos el área tubular del medio (42) en forma de embudo se componen de un material traslúcido. Esta forma de configuración de una celda de medición es especialmente adecuada para la medición de la

velocidad de flujo del líquido de muestra (49) en la segunda cámara de celda de medición. La velocidad de flujo se mide entonces fotométricamente en el área tubular del medio (44) en forma de embudo, con ayuda de fuentes luminosas dispuestas a lo largo del eje longitudinal de la celda de medición y detectores de luz (no representados). Alternativamente, la velocidad de flujo en el área tubular del medio (44) en forma de embudo también puede medirse por medio de anemometría por láser Doppler (LDA).

Figura 5

La figura 5 muestra otra forma de realización de una celda de medición (5) de acuerdo con la invención. La celda de medición (5) comprende una primera cámara (51) para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos y una segunda cámara (52) que recoge la muestra de líquido procedente de la primera cámara, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición. La celda de medición comprende además un elemento separador (53) poroso, que separa la primera y segunda cámara entre sí a lo largo de todo el diámetro del cuerpo hueco. El elemento separador (53) contiene al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos.

Asimismo, la celda de medición (5) mostrada en este caso dispone, en la segunda cámara (52), de un medio (54) para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera subárea (521), una segunda subárea (522) y una tercera subárea (523). La primera subárea (521), el área de alojamiento, sirve para recoger y redirigir el líquido de muestra que atraviesa el elemento separador, a lo largo del eje longitudinal de la segunda cámara (52), de la mitad proximal a la distal. La primera subárea (521) está, en la mitad distal de la segunda cámara (52), en comunicación con la segunda subárea (522), de modo que el líquido de muestra recogido y redirigido puede salir de la primera subárea (521) hacia la segunda subárea (522). La segunda subárea (522), el área de medición, sirve para medir la velocidad de flujo del líquido de muestra que se recoge en la segunda cámara (52). La segunda subárea (522) tiene en este caso la forma de un capilar, que sube desde la mitad distal en dirección a la mitad proximal de la segunda cámara y que presenta en su extremo una abertura (57) que establece una comunicación con la tercera subárea (523). La tercera subárea (523), el área de rebosadero, sirve como rebosadero para el líquido de muestra (59) procedente de la segunda subárea (522). Esta forma de realización de una celda de medición es especialmente adecuada para la determinación de la función de los trombocitos con ayuda de la medición de la velocidad de flujo del líquido de muestra.

Figura 6

La figura 6 muestra la vista en planta de un rotor de celdas de medición (7) de acuerdo con la invención con varias celdas de medición (6) dispuestas en forma de arco de círculo, comprendiendo cada celda de medición (6) una primera cámara (61) para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos así como una segunda cámara (62) que recoge la muestra de líquido procedente de la primera cámara, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición. La celda de medición comprende, además, un elemento separador (63) poroso, que separa la primera y segunda cámara entre sí a lo largo de todo el diámetro del cuerpo hueco. El elemento separador (63) contiene al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos.

Las celdas de medición (6) presentan, a lo largo de su eje longitudinal, una forma arqueada. El área de una celda de medición (6) que contiene el elemento separador (63) tiene un diámetro menor que el resto de áreas de la celda de medición. En el lado superior del rotor de celdas de medición (7) se encuentran orificios de pipeteado (68), a través de los cuales puede introducirse el material de muestra en la primera cámara (61) de una celda de medición (6). La flecha indica el sentido de rotación del rotor de celdas de medición (7).

Lista de referencias

45	celda de medición	1, 2, 3, 4, 5, 6
	rotor de celdas de medición	7
	primera cámara para alojar de una muestra	11, 21, 31, 41, 51, 61
	segunda cámara zum recoger de la muestra procedente de la primera cámara	12, 22, 32, 42, 52, 62
	elemento separador	13, 23, 33, 43, 53, 63
50	medio para dividir el volumen de la segunda cámara	24, 34, 44, 54
	primera subárea de la segunda cámara (área de alojamiento)	221, 321, 421, 521
	segunda subárea de la segunda cámara (área de medición)	222, 322, 422, 522
	electrodos	25, 35, 45
	líquido de muestra	29, 39, 49, 59
55	primera sección de un medio para dividir el volumen de la segunda cámara	341
	segunda sección de un medio para dividir el volumen de la segunda cámara	342
	pared	36
	tercera subárea de la segunda cámara (área de rebosadero)	523
	abertura	57
60	orificio de pipeteado	68

El siguiente ejemplo de realización sirve para ilustrar el procedimiento de acuerdo con la invención y no ha de entenderse como limitación.

Ejemplos

5 **Ejemplo 1: Determinación de acuerdo con la invención de la actividad de los trombocitos en una muestra de sangre entera**

10 Se fabricaron celdas de medición de acuerdo con la invención de la siguiente manera: se cortaron tubitos de centrífuga conformados de manera cónica (tubitos Falcon de 50 ml de plástico transparente, Becton Dickson) aproximadamente a mitad de altura. Sobre la abertura de un tubo Falcon cortado se colocó una pieza superpuesta de filtro desechable con una membrana PVDF (Millipore Millex®-SV, 5 µm de tamaño de poro). De acuerdo con la invención, la membrana PVDF se trató previamente con una mezcla de activadores de trombocitos que contenía colágeno y epinefrina (en cada caso 0,5 mg/ml). Para ello se añadieron 0,8 ml de la mezcla a través de una pieza superpuesta de filtro desechable Millipore Millex®-SV y a continuación se secaron al aire. Para el control se añadieron 0,8 ml de agua a través de una pieza superpuesta de filtro desechable Millipore Millex®-SV y a continuación se secaron al aire. Sobre la pieza superpuesta de filtro desechable Millipore Millex®-SV colocada sobre el tubo Falcon cortado se fijó ahora una jeringa desechable de plástico (Omnifix®, 5 ml, B. Braun Melsungen AG) sin émbolo y sin aguja de inyección.

20 En la primera cámara de la celda de medición, la jeringa desechable, se colocaron ahora 1,5 ml de una muestra de sangre citratada normal, y la celda de medición se centrifugó en una centrífuga (Rotixa R50, Andreas Hettich GmbH & Co. KG) durante 75 segundos con $50 \times g$ a 22 °C. La cantidad de líquido que se recogió en la segunda cámara, el tubo Falcon cortado, se determinó volumétricamente.

Como puede observarse a partir de la tabla 1, el uso de elementos separados impregnados con los activadores plaquetarios colágeno y epinefrina provoca un caudal disminuido de líquido de muestra como consecuencia de la agregación plaquetaria inducida en la muestra de sangre.

Tabla 1

Impregnación del elemento separador	Volumen del caudal
Colágeno/epinefrina	0,6 ml
Agua	1,5 ml

25

REIVINDICACIONES

1. Celda de medición (1, 2, 3, 4, 5, 6) para determinar la función de los trombocitos que comprende
- 5 a. una primera cámara (11, 21, 31, 41, 51, 61) para alojar una muestra de líquido con contenido en trombocitos,
 b. una segunda cámara (12, 22, 32, 42, 52, 62), que recoge la muestra de líquido procedente de la primera cámara, siempre que actúe una fuerza centrífuga sobre la celda de medición, y
 c. un elemento separador (13, 23, 33, 43, 53, 63) poroso, que separa la primera y segunda cámara entre sí,
- caracterizada por que** el elemento separador (13, 23, 33, 43, 53, 63) contiene al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos.
- 10 2. Celda de medición según la reivindicación 1, en la que la al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos es un activador de trombocitos, preferentemente del grupo ADP, 2-MeSADP, colágeno, epinefrina, ristocetina, trombina, TRAP, ácido araquidónico, U46619, PMA y serotonina.
3. Celda de medición según la reivindicación 1, en la que la al menos una sustancia soluble que influye en la actividad de los trombocitos es un inhibidor de trombocitos, preferentemente del grupo prostaglandina E1, prostaglandina I2, forskolina, iloprost y cicaprost.
- 15 4. Celda de medición según una de las reivindicaciones anteriores, en la que el elemento separador contiene además iones de cloruro de calcio.
5. Celda de medición según una de las reivindicaciones anteriores, en la que el elemento separador (13, 23, 33, 43, 53, 63) presenta un tamaño de poro de 2 - 20 μm , preferentemente de 5 μm .
- 20 6. Celda de medición según una de las reivindicaciones anteriores, en la que al menos una subsección de la segunda cámara (12, 22, 32, 42, 52, 62) se compone de un material traslúcido.
7. Celda de medición según una de las reivindicaciones 1 a 6, en la que en la segunda cámara (12, 22, 32, 42, 52, 62) están dispuestos varios pares de electrodos (25, 35, 45) para la medición eléctrica del nivel de llenado.
- 25 8. Celda de medición (2, 3, 4, 5) según una de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la segunda cámara (22, 32, 42, 52) –la cual, partiendo del elemento separador poroso, presenta a lo largo de su eje longitudinal una mitad proximal y una mitad distal– presenta en su interior un medio (24, 34, 44, 54) para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera subárea (221, 321, 421, 521) y una segunda subárea (222, 322, 422, 522),
- 30 - en donde la primera subárea sirve para recoger y redirigir el líquido de muestra que atraviesa el elemento separador, y
 - en donde la segunda subárea sirve para medir la cantidad de líquido del líquido de muestra que se recoge en la segunda cámara, y
 - en donde la primera y segunda subárea están, en la mitad distal de la segunda cámara, en comunicación la una con la otra, de modo que el líquido de muestra recogido y redirigido puede salir de la primera subárea hacia la segunda subárea.
- 35 9. Celda de medición (2) según la reivindicación 8, en la que el medio (24) para dividir el volumen de la segunda cámara (22) en una primera y una segunda subárea (221, 222) presenta un plano inclinado con respecto al elemento separador poroso, que llega desde la mitad proximal a la distal de la segunda cámara.
10. Celda de medición (3) según la reivindicación 8, en la que el medio (34) para dividir el volumen de la segunda cámara (32) en una primera y una segunda subárea (321, 322)
- 40 - presenta una primera sección (341), que presenta un plano inclinado con respecto al elemento separador poroso, y
 - presenta una segunda subsección (342) que sigue a la primera subsección, que discurre en paralelo a una pared (36) que delimita el volumen de la segunda cámara y forma con esta una estructura tubular, que llega hasta la mitad distal de la segunda cámara.
- 45 11. Celda de medición (4) según la reivindicación 8, en la que el medio (44) para dividir el volumen de la segunda cámara (42) en una primera y una segunda subárea (421, 422) está configurado en forma de embudo y el área tubular del medio en forma de embudo llega hasta la mitad distal de la segunda cámara.

12. Celda de medición (2, 3, 4) según una de las reivindicaciones 8 a 11, en la que la segunda subárea (222, 322, 422) de la segunda cámara, que sirve para medir la cantidad de líquido del líquido de muestra que se recoge en la segunda cámara, presenta medios para la medición eléctrica del nivel de llenado, preferentemente varios pares de electrodos (25, 35, 45).
- 5 13. Celda de medición (5) según una de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la segunda cámara (52) –que, partiendo del elemento separador poroso, presenta a lo largo de su eje longitudinal una mitad proximal y una mitad distal– presenta en su interior un medio (54) para dividir el volumen de la segunda cámara en una primera, una segunda y una tercera subárea (521, 522, 523),
- 10 - en donde la primera subárea (521) sirve para recoger y redirigir el líquido de muestra que atraviesa el elemento separador (53), y en donde la redirección del líquido de muestra tiene lugar a lo largo del eje longitudinal de la segunda cámara (52) desde la mitad proximal a la distal, y
- en donde la segunda subárea (522) sirve para medir la velocidad de flujo del líquido de muestra (59) que se recoge en la segunda cámara (52), y
- 15 - en donde la tercera subárea (523) sirve como rebosadero para el líquido de muestra procedente de la segunda subárea (522), y
- en donde la primera y segunda subárea (521, 522) están, en la mitad distal de la segunda cámara, en comunicación la una con la otra, de modo que el líquido de muestra recogido y redirigido puede salir de la primera subárea hacia la segunda subárea, y
- 20 - en donde la segunda subárea (522) tiene la forma de un capilar que sube desde la mitad distal en dirección a la mitad proximal de la segunda cámara y que presenta en su extremo una abertura (57) que establece una comunicación con la tercera subárea (523).
14. Dispositivo (7) para la determinación simultánea de la función de los trombocitos en varias muestras, **caracterizado por que** presenta al menos dos celdas de medición (6) según una de las reivindicaciones 1 a 13.
15. Procedimiento para determinar la función de los trombocitos, que comprende las siguientes etapas:
- 25 i. llenar la primera cámara de una celda de medición según una de las reivindicaciones 1 a 13 con una muestra de líquido con contenido en trombocitos,
- ii. ejercer una fuerza centrífuga sobre la celda de medición con la muestra de líquido,
- iii. medir la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara o medir la velocidad de flujo del líquido de muestra en la segunda cámara de la celda de medición,
- 30 en donde la cantidad de líquido recogida y la velocidad de flujo se correlacionan inversamente con la función de los trombocitos.
16. Procedimiento según reivindicación 15, en el que la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara de la celda de medición se determina fotométrica o eléctricamente.
- 35 17. Procedimiento según reivindicación 15, en el que la velocidad de flujo del líquido de muestra en la segunda cámara de la celda de medición se determina por medio de anemometría por láser Doppler.
18. Procedimiento según una de las reivindicaciones 15 a 17, en el que la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara de la celda de medición, o la velocidad de flujo, se mide de manera continua a lo largo de un periodo de tiempo dado.
- 40 19. Procedimiento según una de las reivindicaciones 15 a 17, en el que la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara de la celda de medición, o la velocidad de flujo, se mide una vez en un momento dado.
20. Procedimiento según una de las reivindicaciones 15 a 19, en el que la cantidad de líquido que se recoge en la segunda cámara de la celda de medición, o la velocidad de flujo, se mide mientras se ejerce la fuerza centrífuga sobre la celda de medición.
- 45 21. Procedimiento según una de las reivindicaciones 15 a 20, en el que la fuerza centrífuga que se ejerce sobre la celda de medición se sitúa en un intervalo de 50 - 2.000 × g.

FIG 1

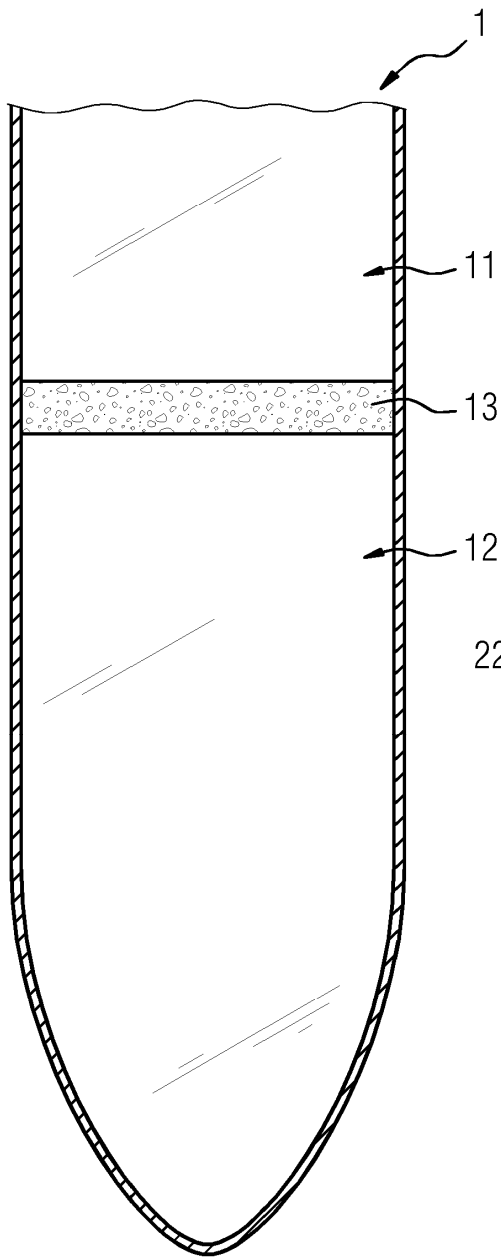


FIG 2

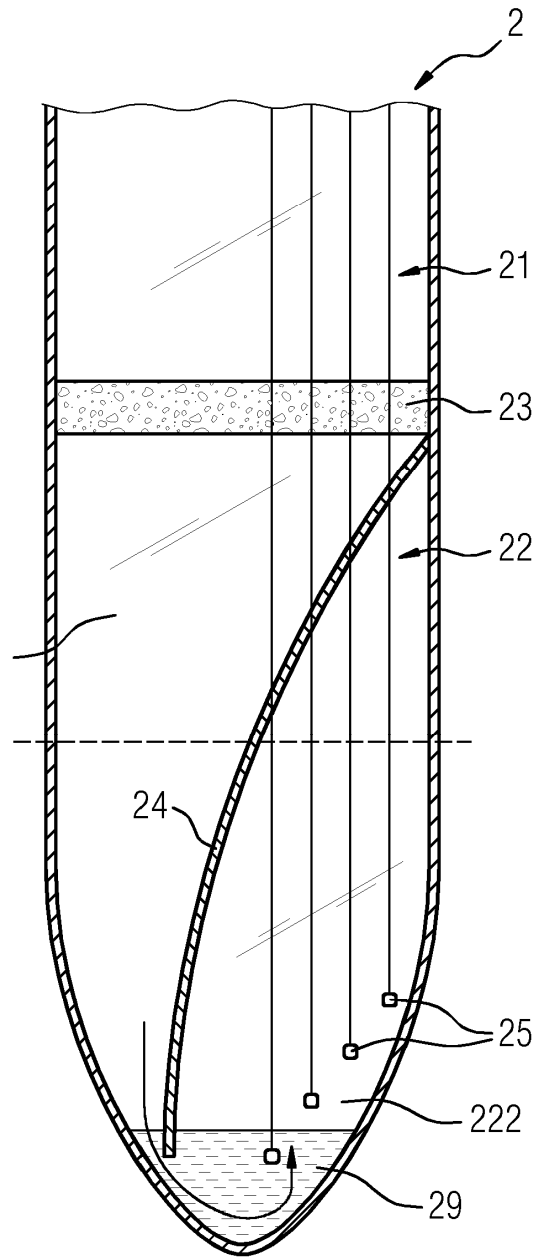


FIG 3

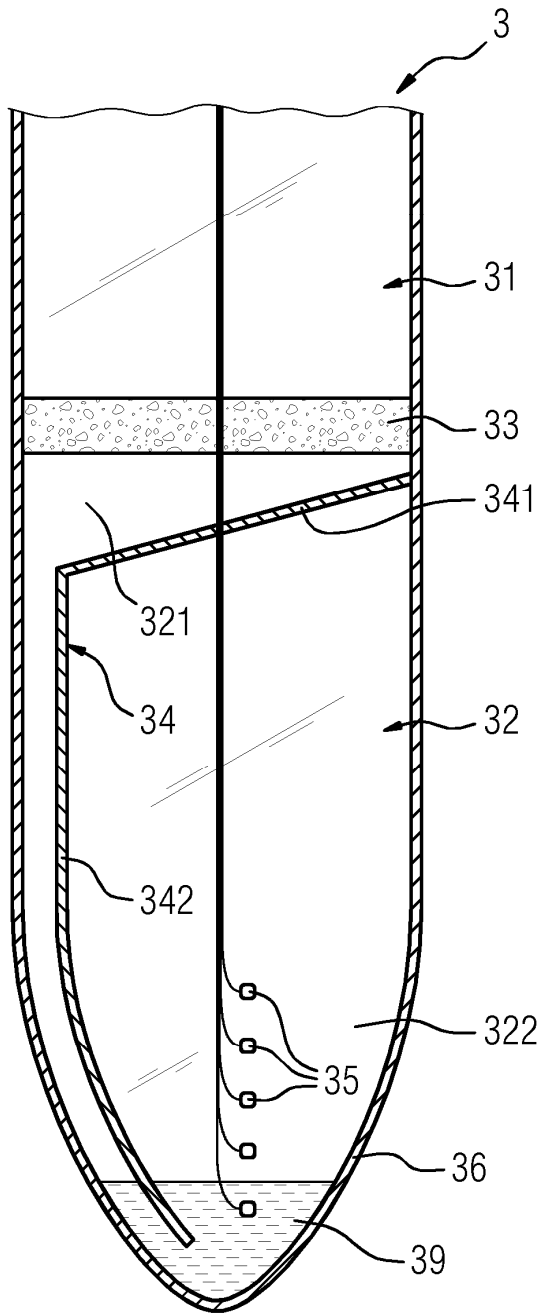


FIG 4A

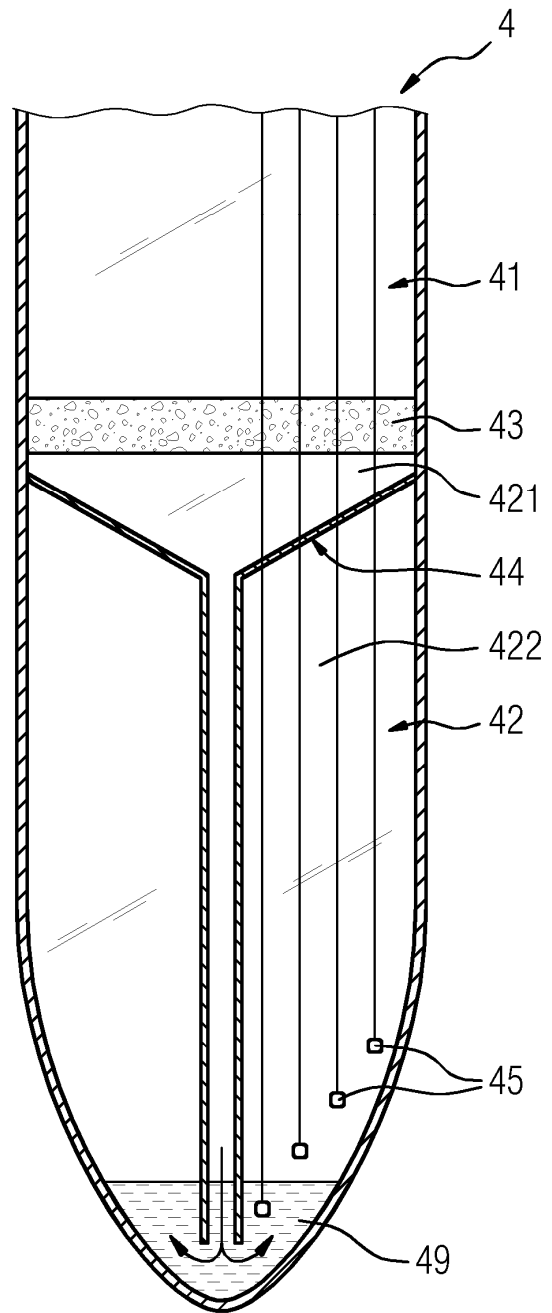


FIG 4B

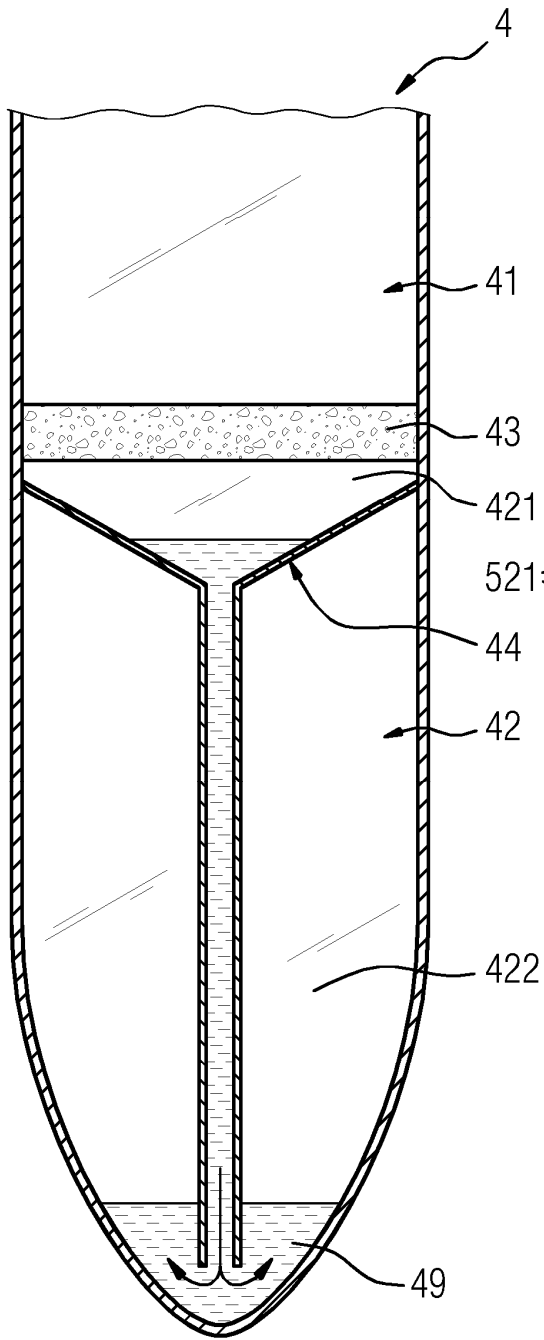


FIG 5

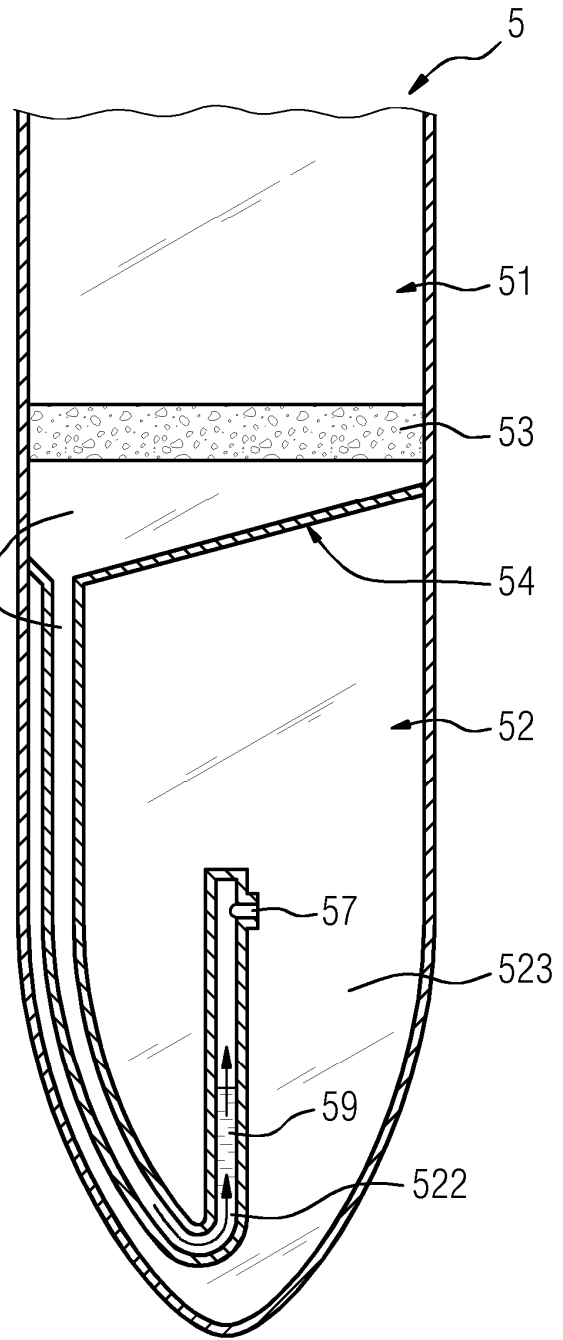


FIG 6

