

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 745 106**

51 Int. Cl.:

**G01N 21/25** (2006.01)

**G01N 35/02** (2006.01)

**G01N 21/03** (2006.01)

**G01N 21/82** (2006.01)

**G01N 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2010 E 10009248 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2019 EP 2309251**

54 Título: **Dispositivo y procedimiento para el estudio fotométrico de muestras y aparato de análisis que presenta un dispositivo de este tipo**

30 Prioridad:

**30.09.2009 DE 102009043524**

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

**27.02.2020**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MELLER, PAUL, DR. y  
PUFAHL, HOLGER, DR.**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 745 106 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**

Dispositivo y procedimiento para el estudio fotométrico de muestras y aparato de análisis que presenta un dispositivo de este tipo.

**CAMPO DE LA INVENCION**

- 5 La presente invención se refiere a un dispositivo y a un procedimiento para el estudio fotométrico de muestras.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

10 En aparatos de análisis automatizados, tal como se usan actualmente de manera rutinaria en análisis químicos, la medicina forense, la microbiología y el diagnóstico clínico, existe la necesidad de determinar distintas propiedades de líquidos – por ejemplo en estudios de coagulación de la sangre – con procedimientos ópticos de manera rápida, exacta y reproducible. En el caso de aparatos de análisis hemostáticos se usan en la actualidad esencialmente dos principios de medición distintos. Por un lado se usan aparatos con una unidad de detección estacionaria, por ejemplo un fotómetro estacionario, así como un soporte de muestras en forma de disco, móvil (el denominado carrusel de muestras). Las muestras en el soporte de muestras se hacen pasar sucesivamente por delante de la

15 unidad de detección y se miden. Como consecuencia de esto, el carrusel de muestras debe detenerse cada vez que una nueva muestra se introduce en el carrusel o bien cada vez que se saca una muestra ya medida del carrusel. A estas etapas le acompaña por consiguiente una clara pérdida de eficacia. Como alternativa sería concebible que un dispositivo de agarre agarrara muestras del carrusel de muestras giratorio, sin embargo una disposición de este tipo es muy propensa a fallos.

20 El otro principio de medición hace uso de varias unidades de detección ópticas estacionarias. A este respecto está previsto por muestra en cada caso una unidad de detección. De esta manera pueden medirse al mismo tiempo cada vez más muestras. Sin embargo en este principio de medición tienen todas las unidades de detección su propia configuración óptica, lo que dispara los costes de material y acabado, hace que el dispositivo sea propenso a fallos y sea de mantenimiento costoso y además encierra el riesgo de variaciones de precisión entre las unidades de detección individuales, que pueden controlarse sólo con dificultad.

25 El documento US 4.234.538 da a conocer un dispositivo para el estudio fotométrico de muestras, que presenta al menos un dispositivo de soporte de muestras, que está configurado de manera móvil, aunque en algunos ejemplos de realización no se mueva de manera continua.

**BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION**

30 Un objetivo de la presente invención es facilitar un dispositivo para el estudio fotométrico de muestras que evite los inconvenientes de los aparatos descritos en el estado de la técnica.

Además, el objetivo de la presente invención es configurar un dispositivo de este tipo de modo que durante la medición puedan pipetearse de manera continua reactivos en el recipiente de muestra.

Estos objetivos se solucionan con las características del presente juego de reivindicaciones. Las reivindicaciones dependientes indican preferentemente formas de realización.

**BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS**

35 La presente invención se explica de manera más exacta mediante las figuras mostradas y discutidas a continuación. A este respecto ha de tenerse en cuenta que las figuras tienen sólo carácter descriptivo y no pretenden limitar la invención de ninguna forma.

40 La figura 1 muestra una vista superior sobre un dispositivo para el estudio fotométrico de muestras. Este dispositivo, que no se encuentra en el alcance de protección de las reivindicaciones, presenta sólo una unidad de medición. Además se indica el desarrollo temporal de la medición.

La figura 2 muestra una representación esquemática del desarrollo temporal de proceso de medición de acuerdo con la figura 1.

La figura 3 muestra una sección transversal del dispositivo de acuerdo con la figura 1.

45 La figura 4 muestra una forma de realización del dispositivo de acuerdo con la invención para el estudio fotométrico de muestras. La forma de realización corresponde al dispositivo de la figura 1, con la diferencia de que en este caso se encuentran tres unidades de medición en lugar de una.

La figura 5 muestra otro dispositivo que no se encuentra en el alcance de protección de las reivindicaciones, con disposición concéntrica de los recipientes de muestras en dos filas.

50 La figura 6 muestra una representación tridimensional de un dispositivo de acuerdo con la invención.

**DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

De acuerdo con la invención está previsto un dispositivo para el estudio fotométrico de muestras. Éste presenta una unidad de soporte de muestras para al menos dos recipientes de muestras así como una unidad de medición y una unidad móvil. La unidad de soporte de muestras está configurada a este respecto de manera estacionaria, es decir de manera que no puede moverse, y la unidad de medición está dispuesta en la unidad móvil de modo que ésta puede desplazarse por medio de la unidad móvil.

El término “estudios fotométricos”, tal como se usa en cuestión, se refiere a mediciones de absorción, reflexión, difracción, fluorescencia, fosforescencia, quimioluminiscencia y/o dispersión con ondas electromagnéticas. En este caso se piensa en primer lugar en ondas electromagnéticas del espectro visible (entre aproximadamente 350 nm y aproximadamente 750 nm de longitud de onda), sin embargo también en ondas en la región de infrarrojo (IR) (entre aproximadamente 750 nm y aproximadamente 1 mm de longitud de onda) y en la región de ultravioleta (UV) (entre aproximadamente 350 nm y aproximadamente 50 nm de longitud de onda).

En el dispositivo de acuerdo con la invención ya no se desplazan los recipientes de muestras, a diferencia del estado de la técnica, sino sólo las unidades de medición. Además resulta en primer lugar la ventaja de que se mueven en total pocas masas. Además se evita en el caso de muestras líquidas un desbordamiento de los líquidos o bien posibles movimientos originados mediante el procedimiento que pueden conducir a falseamientos del resultado de medición.

Por estos motivos, en aparatos conocidos hasta ahora existía además siempre la necesidad de adaptar la velocidad de conducción con la que se mueven las muestras y ralentizarla de manera correspondiente, o sea integrar procesos de frenado y de aceleración. Como consecuencia de esto, otra ventaja del dispositivo de acuerdo con la invención es que se suprime ahora esta necesidad y por consiguiente la velocidad de conducción – y la frecuencia de medición que resulta de esto – el número de mediciones por segundo – del dispositivo puede aumentarse.

Además en el caso del dispositivo de acuerdo con la invención – a diferencia de un disco de muestras que puede moverse – puede conseguirse de manera más fácil técnicamente la regulación de la temperatura de las muestras, ya que el suministro eléctrico del elemento de calefacción y los sensores se encuentran en una parte estacionaria.

Además es posible en el dispositivo de acuerdo con la invención el acceso a cualquier muestra en cualquier momento, dado que los propios recipientes de muestras no se mueven. En particular no se indica una medición secuencial de los recipientes de muestras individuales, sino que puede acercarse de manera dirigida a recipientes de muestras individuales y medir. A este respecto es en particular posible modificar la dirección de desplazamiento de la unidad de medición con bajo esfuerzo, lo que puede realizarse en la práctica sólo con esfuerzo elevado con la unidad de carrusel discutida del estado de la técnica debido a las masas más altas.

Además es ventajoso el dispositivo de acuerdo con la invención, dado que en esta disposición puede medirse de manera cuasi-continua y con alta frecuencia. De esto se ocupa aún a continuación.

El término “unidad de soporte de muestras” debe designar a continuación una unidad que puede alojar y sujetar al menos dos recipientes de muestras. Para ello presenta la unidad de soporte de muestras medios para la sujeción de al menos dos recipientes de muestras. Para la sujeción de recipientes de muestras son adecuadas por ejemplo omisiones (perforaciones, orificios estampados, concavidades) en el cuerpo de la unidad de soporte de muestras, que están formadas de modo que los recipientes de muestra previstos pueden usarse de manera adaptada y pueden separarse de nuevo. Además son adecuados medios mecánicos (por ejemplo piezas de construcción con rosca interna), que permiten una fijación temporal de recipientes de muestras, que están configurados de manera correspondiente (por ejemplo con una zona o pieza de construcción con rosca externa), en la unidad de soporte de muestras. En particular puede permitir la unidad de soporte de muestras la medición de las muestras por ejemplo desde abajo, desde el lado, desde arriba o una combinación de las tres posibilidades (véase la figura 3).

Preferentemente, la unidad de soporte de muestras está configurada de modo que pueda regularse la temperatura de la muestra en el recipiente de muestras. Para ello, la unidad de soporte de muestras está constituida preferentemente por un material térmicamente conductor y comprende un elemento de construcción eléctrico, que transforma energía eléctrica en energía térmica, es decir una resistencia de calentamiento, por ejemplo en forma de una espiral de calentamiento, una banda de calentamiento o un manguito de calentamiento. De manera especialmente preferente, la unidad de soporte de muestras calienta la muestra hasta ~ 37 °C.

Por lo demás el experto sabe cómo debe estar configurada una unidad de soporte de muestras, para que la alimentación con recipientes de muestras y la extracción de recipientes de muestras discorra de manera segura y eficaz. La alimentación de la unidad de soporte de muestras con recipientes de muestras así como la extracción de los mismos puede realizarse de manera manual mediante un operario. En un aparato de análisis automático están previstos preferentemente dispositivos controlados, tal como por ejemplo brazos manipuladores, que pueden transportar los recipientes de muestras.

- 5 El término “recipiente de muestras” debe designar a continuación un recipiente en el que se encuentra la muestra que va a medirse o bien una mezcla de muestra-reactivo. El recipiente de muestras debía estar facilitado de modo que pudiera realizarse la medición de manera rápida, exacta y reproducible. Además debía poder transportarse bien el recipiente de muestras dentro de un dispositivo automático. Generalmente se prefieren cubetas que están constituidas por un material transparente para la región de longitud de onda usada en cada caso, de baja absorción propia y dado el caso son también económicas en su fabricación. Éstas pueden estar constituidas por ejemplo por plástico transparente, tal como por ejemplo policarbonato o poli(metacrilato de metilo). En particular para aplicaciones en las que se usa luz ultravioleta, pueden usarse también cubetas de cuarzo.
- 10 El término “unidad de medición” designa una unidad que comprende un componente esencial para la realización de una medición fotométrica, es decir al menos una fuente de luz o al menos un fotodetector. De acuerdo con la invención comprende una unidad de medición al menos una fuente de luz y al menos un fotodetector.
- 15 El término “unidad móvil” debe designar a continuación una unidad que puede moverse, o sea puede desplazar una unidad de medición en distintas posiciones y así permite la medición de muestras en distintas posiciones. En una forma de realización, en el caso de la unidad móvil se trata de un elemento de construcción en forma de barra que se monta sobre un eje y puede girarse alrededor de este eje (eje de rotación).
- En un dispositivo, que no se encuentra en el alcance de protección de las reivindicaciones, está previsto que los recipientes de muestras estén dispuestos en disposición lineal en la unidad de soporte de muestras y la unidad de medición puede desplazarse con ayuda de la unidad móvil de manera paralela a la disposición lineal en cuestión.
- 20 En un dispositivo, que no se encuentra en el alcance de protección de las reivindicaciones, está previsto que los recipientes de muestras estén dispuestos en disposición concéntrica en la unidad de soporte de muestras, o sea en forma de al menos dos círculos dispuestos de manera concéntrica uno con respecto a otro. De esta manera pueden alojarse más recipientes de muestras en el dispositivo (figura 5).
- 25 De acuerdo con la invención está previsto que los recipientes de muestras estén dispuestos en disposición a modo de arco circular en la unidad de soporte de muestras, y la unidad de medición puede desplazarse con ayuda de la unidad móvil de manera circundante con respecto a la disposición de los recipientes de muestras.
- 30 A este respecto, los recipientes de muestras están dispuestos a modo de un disco estacionario, es decir configurado de manera inmóvil, no giratorio – a continuación designado también como “alojamiento de cubetas configurado de manera cilíndrica” o “alojamiento de cubetas cilíndrico”, mientras que gira la unidad de medición y a este respecto recorre las posiciones de los recipientes de muestras individuales. Preferentemente, el eje de rotación de la unidad de medición corresponde al punto central de la disposición a modo de arco circular de los recipientes de muestras o bien al punto central común de recipientes de muestras dispuestos de manera concéntrica.
- 35 En una forma de realización especialmente preferente presenta el dispositivo por ejemplo 25 cubetas (con una distancia de arco circular entre las cubetas de  $14,4^\circ$ ) y la unidad de medición gira con 2 Hz, es decir el contenido de cada cubeta se mide dos veces por segundo. Según esto puede servir una de las 25 posiciones como posición de referencia, en la que se mide un valor de referencia o un valor ciego.
- 40 Además presenta la unidad de medición al menos una fuente de luz y al menos un fotodetector. En una disposición de modo de arco circular de las cubetas en un alojamiento de cubetas cilíndrico podría estar dispuesta de manera fija por consiguiente la fuente de luz o el fotodetector alrededor del punto central del alojamiento de cubetas cilíndrico y giraría en cada caso solo un fotodetector o bien una fuente de luz. De esta manera podría reducirse el gasto mecánico. Además se supera mediante esta estructura también el riesgo mencionado anteriormente de variaciones de exactitud entre las unidades de detección individuales.
- 45 Se prefiere además que la fuente de luz presente un LED (Light Emitting Diode, diodo de emisión de luz). Una fuente de luz de este tipo presenta un tamaño de construcción más bajo y un peso más bajo que otras fuentes de luz conocidas por el estado de la técnica. Esto conduce a simplificaciones considerables de la construcción y reduce mediante el peso más bajo posibles desequilibrios que pueden originarse mediante una rotación de la unidad de medición con una alta masa. Además, los LED presentan un bajo desarrollo de calor y la región de longitud de onda de los LED puede definirse de manera exacta, de modo que puede prescindirse dado el caso de correspondiente enfriamiento y/o filtros, lo que reduce a su vez el peso, gasto y tamaño de construcción y así reduce costes y dado el caso desequilibrios. A esto se añaden una alta capacidad de carga por golpe y choque así como una rápida capacidad de cambio y de modulación, que apuntan al uso de un LED.
- 50 También puede estar previsto sin embargo que en el caso de la fuente de luz se trate de un diodo láser, en modo de construcción adaptado, una lámpara incandescente, una lámpara de descarga de gas o una lámpara de arco.
- En el caso del fotodetector se trata preferentemente de un fotodiodo, que convierte luz visible, en algunas realizaciones también luz IR, o luz UV mediante el fotoefecto interno en una corriente eléctrica o bien una tensión.
- 55 Como alternativa, en el caso del fotodetector se trata de un detector CCD. Los detectores CCD están constituidos por una matriz o una línea con fotodiodos sensibles a la luz. El uso de un detector CCD es práctico en particular

cuando el dispositivo presenta más de una unidad de medición, por ejemplo cuando deben realizarse mediciones en distintas longitudes de onda. En este caso puede servir cada elemento del detector CCD como fotodetector para una de las unidades de medición, lo que simplifica considerablemente el gasto mecánico.

5 Igualmente puede estar previsto, sin embargo, que en el caso del fotodetector se trate de una fotocélula, un fotodetector de silicio, fotodetector de avalancha o fotomultiplicador.

Básicamente puede presentar la unidad de medición además aún filtros, elementos ópticos (por ejemplo lentes para la construcción de un condensador), dispositivo electrónico de control, dispositivo electrónico de evaluación y de selección y/o un suministro de tensión.

10 De acuerdo con la invención, el dispositivo presenta varias unidades de medición. De acuerdo con la invención, las varias unidades de medición están dispuestas para ello en conjunto en una única unidad móvil (véase la figura 4). Como alternativa pueden estar previstas varias unidades móviles, en las que están dispuestas en cada caso varias unidades de medición.

15 Debido a ello puede medirse una muestra secuencialmente en varias longitudes de onda. Preferentemente se encuentran las longitudes de onda en un intervalo de aproximadamente 300 nm a aproximadamente 1100 nm. Se prefieren a este respecto en particular las longitudes de onda 340 nm, 405 nm, 470 nm, 600 nm y 850 nm, dado que éstas son adecuadas especialmente para estudios hemostáticos.

En otros protocolos de medición, que se realizan con el dispositivo de acuerdo con la invención, pueden usarse sin embargo también otras longitudes de onda. Un experto conoce las longitudes de onda que debían usarse para una determinada medición.

20 Por hemostasia se entiende el proceso vital que detiene las hemorragias producidas en caso de lesiones de los vasos sanguíneos. Dos tareas opuestas caracterizan el sistema hemostático. Por un lado debe garantizarse un flujo continuo de la sangre mediante anticoagulación constante, por otro lado debe inducirse la hemostasia en el caso necesario tan rápido como sea posible y de manera limitada exactamente en el sitio de lesión – o sea la coagulación de la sangre.

25 Para la determinación de la capacidad de coagulación sirven ensayos especiales, en los que se determina la actividad de un factor de coagulación individual o de varios factores de coagulación mediante la medición de la velocidad de formación de fibrina en una muestra de sangre o de plasma. Ejemplos típicos de ensayos de coagulación de este tipo son el tiempo de protrombina (PT) (también denominado Quick-Test o tiempo de tromboplastina), el tiempo de tromboplastina parcialmente activada (APTT), el tiempo de trombina (TT), el tiempo de batroxobina (BT) o el tiempo de ecarina (ECT).

30 Dado que la verdadera reacción de detección está unida a la polimerización de la fibrina en primer lugar aún soluble para dar fibrina altamente polimérica insoluble, es importante la elección de la longitud de onda, en la que tiene lugar la medición fotométrica. Por regla general se seleccionan para la medición longitudes de onda de más de 500 nm. Debido a ello se minimizan las variables de perturbación más frecuentes de la muestra – bilirrubina y hemoglobina.

35 Por hemólisis se entiende la disolución de eritrocitos mediante destrucción de la membrana celular y la liberación de hemoglobina que acompaña a esto así como otras partes constituyentes citoplasmáticas (por ejemplo lactatodeshidrogenasa).

40 En el caso de sangre hemolítica puede cuantificarse fotométricamente por ejemplo el contenido de hemoglobina en el plasma, mediante separación de plasma y eritrocitos. La determinación fotométrica de la sangre es un procedimiento convencional en la medicina. Así puede usarse la hemólisis como indicador para distintas enfermedades base entre otras cosas para reacción inmunitaria frente a partes constituyentes de membrana, destrucción tóxica, parásitos, enzimas bacterianas y anomalías estructurales.

Los parámetros que van a determinarse en el caso de mediciones de hemólisis o bien de hemostasia comprenden por ejemplo haptoglobina, reticulocitos, bilirrubina indirecta, LDH y potasio (en el caso de hemólisis masiva).

45 En el procedimiento de cianometahemoglobina, tras la eliminación de partes constituyentes de células esparcidas se convierten todas las formas de la hemoglobina (Hb) en cianometahemoglobina estable (HbCN), con los que está unida una modificación del coeficiente de absorción espectral independientemente del estado reducido u oxigenado previamente. Los espectros de absorción característicos de hemoglobina oxigenada y reducida con la longitud de onda isosbética permiten la determinación cuantitativa de la saturación de oxígeno en la sangre. Además pueden  
50 determinarse también las concentraciones de los derivados de hemoglobina HbCO (carboxi-hemoglobina), MetHb (metahemoglobina) y HbF (hemoglobina fetal) por medio de sus espectros de absorción específicos. Por ejemplo puede determinarse, en caso de una intoxicación con monóxido de carbono, un valor elevado para HbCO, en caso de inhalación de nitrito y óxido de nitrógeno un valor elevado para MetHb.

55 En el caso de mediciones de hemólisis o bien de hemostasia, dependiendo del parámetro sometido a estudio, se usan distintas longitudes de onda. La reacción indicadora de lactatodeshidrogenasa (reducción de NADH) tiene lugar

por ejemplo preferentemente en 340 nm.

Para el caso de una disposición a modo de arco circular de los recipientes de muestras pueden estar dispuestas las varias unidades de medición en una matriz unitaria, dispuesta de manera circundante en una unidad móvil (véase la figura 4).

- 5 Mediante una disposición de este tipo resultan propiedades de marcha especialmente tranquilas de la(s) unidad(es) que pueden desplazarse y pueden realizarse simplificaciones en el análisis de valor de medición.

Se prefiere además que al menos una unidad de medición esté configurada de modo que ésta pueda medir de manera continua o bien de manera cuasi-continua durante el desplazamiento con ayuda de la unidad móvil.

- 10 En una forma de realización de este tipo, un dispositivo electrónico de evaluación o bien el software de control conectado posteriormente determina y conoce siempre la disposición espacial de la unidad de medición y los al menos dos recipientes de muestras uno con respecto a otro, por ejemplo a través de ángulos conocidos o a través de señales desencadenantes, con las que se control por ejemplo un motor paso a paso que desplaza la unidad de medición. El dispositivo electrónico puede asignar por tanto en cualquier momento la señal generada, por ejemplo una señal de absorción, a un determinado sitio (es decir, por ejemplo a una determinada cubeta). Así pueden diferenciarse por ejemplo señales generadas mediante bordes de vidrio o espacios intermedios de luz de señales de medición reales, generadas mediante una muestra (véase la figura 2).
- 15

El término "medición continua", tal como se usa en el presente documento, designa una selección análoga de la unidad de medición. Igualmente puede referirse con ello sin embargo también selección digital cuasi-continua con una alta tasa de selección, por ejemplo >1000 Hz.

- 20 A este respecto puede estar previsto además que al menos una parte de los valores de medición obtenidos se promedien por un determinado intervalo de tiempo para elevar la exactitud de medición.

- En una forma de realización preferente, la unidad móvil está dispuesta por debajo de la unidad de soporte de muestra (véase la figura 3). Así puede establecerse el acceso posible en cualquier momento ventajoso a todas las cubetas de la manera más sencilla con la medición continua. A esto hay que añadir que así durante el proceso de medición pueden pipetarse reactivos de manera más o menos continua en los recipientes de muestras.
- 25

En otras formas de realización, la unidad móvil está dispuesta por encima de la unidad de soporte de muestras. En una configuración de este tipo podrían introducirse los recipientes de muestras por ejemplo desde abajo en la unidad de soporte de muestras. Así sería posible un acceso a los recipientes de muestras en cualquier momento, sin embargo en esta forma de realización no pueden añadirse líquidos continuamente a los recipientes de muestras.

- 30 Además está previsto preferentemente que el dispositivo presente al menos una unidad de mezclado dispuesta en la unidad de soporte de muestras.

- Si bien en cualquier caso no es necesario, precisamente en el caso de mediciones de hemólisis o bien de hemostasia, un mezclado continuo de la muestra durante la medición (algunas veces es incluso indeseado), sin embargo existen requerimientos de ensayo en los que es práctico un mezclado completo, por ejemplo en el caso de muestras especialmente turbias o en el caso de la agregometría de trombocitos.
- 35

- Preferentemente, en el caso de la unidad de mezclado se trata de una unidad de mezclado magnético. En esta forma de realización preferente puede estar constituida la unidad de mezclado por ejemplo por un imán de accionamiento giratorio u otros medios que generen un campo electromagnético giratorio y/u oscilante. Una unidad de mezclado magnética actúa sobre un segundo cuerpo magnético o ferromagnético, por ejemplo en forma de un pasador agitador en forma de barra o en forma de partículas (las denominadas perlas), que está contenido en un recipiente de muestras, y mezcla éste en movimiento, de manera que el líquido de muestra o bien la mezcla de muestra-reactivo se mezcla completamente en el recipiente de muestras.
- 40

- Sin embargo son viables también otras unidades de mezclado, por ejemplo una unidad que mezcla por medio de ultrasonido, y por consiguiente no requiere ningún cuerpo magnético o ferromagnético en el recipiente de muestras. También una unidad de mezclado puede presentar un excentro giratorio o un altavoz con cuya ayuda puedan transferirse vibraciones a los recipientes de muestras.
- 45

- Preferentemente presenta el dispositivo varias unidades de mezclado. En el caso de la disposición de los recipientes de muestras a modo de arco circular ya mencionada con una o varias unidades de medición, pueden estar dispuestas unidades de mezclado por ejemplo en 4 de 25 posiciones para recipientes de muestras. Una configuración de este tipo ha dado buen resultado en particular para mediciones de hemólisis o bien de hemostasia, dado que en este caso no es necesario un mezclado para todos los requerimientos de ensayo.
- 50

Otro objeto de la presente invención es un aparato de análisis para el estudio automatizado de muestras líquidas, que comprende un dispositivo de acuerdo con la invención para el estudio fotométrico de muestras. Los aparatos de análisis de este tipo para el estudio automatizado de muestras líquidas comprenden habitualmente al menos un

dispositivo para la alicuotización de líquidos de muestras en un recipiente de muestras, por ejemplo en forma de un primer pipeteador automático, al menos un dispositivo para la alicuotización de líquidos reactivos en un recipiente de muestras, por ejemplo en forma de un segundo pipeteador automático, así como medios para el control de estos dispositivos (software, programa informático, algoritmo).

5 Se prefiere además un procedimiento para el estudio fotométrico de muestras, que presenta el uso de un dispositivo de acuerdo con la invención para el estudio fotométrico de muestras. Un procedimiento de este tipo, en el que el dispositivo es parte de un aparato de análisis, podría desarrollarse por ejemplo de la siguiente manera: en primer lugar se equipa la unidad de soporte de muestras con recipientes de muestras, por ejemplo cubetas, que entonces se llenan en una estación de pipeteado con muestras líquidas, por ejemplo sangre, plasma y/o suero. En la siguiente etapa se añade en una estación de pipeteado un reactivo de análisis. Dado que en este ejemplo no se requiere un mezclado completo de las muestras antes de la medición, se mezcla la muestra de acuerdo con los ajustes del aparato de análisis mediante un dispositivo de mezclado, en este caso un imán giratorio, antes de que ésta se mida por una unidad de medición, en este caso un fotómetro. En este ejemplo están dispuestas las cubetas en forma de arco circular y cinco fotómetros dan vueltas alrededor de las cubetas de manera circundante con una velocidad de 2 Hz. Durante la medición se irradia la muestra con luz de un LED del fotómetro. El fotodetector del fotómetro es en este caso un fotodiodo. En éste se produce una señal eléctrica que es proporcional a la intensidad de la luz que llega a través de la cubeta. Después de que se haya medido una muestra, se transporta posteriormente la cubeta, en la que se encuentra la muestra, hacia otro aparato, por ejemplo hacia una unidad de refrigeración o hacia un aparato de PCR, o la cubeta se elimina en un recipiente de residuos. La posición de la cubeta eliminada se ocupa por una cubeta en la que se encuentra una nueva muestra.

Como alternativa al desarrollo de procedimiento descrito precisamente a modo de ejemplo pueden encontrarse las muestras ya en los recipientes de muestras cuando la unidad de soporte de muestras se equipa con éstos y/o se empieza inmediatamente con el proceso de medición, sin mezclado previo.

25 Otro objeto de la presente invención es por consiguiente un procedimiento para el estudio fotométrico de muestras por medio de un dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 6, en el que los al menos dos recipientes de muestras que contienen muestras están dispuestos a modo de arco circular en la unidad de soporte de muestras y en el que la unidad de soporte de muestras se mantiene inmóvil y las varias unidades de medición, que presentan distintas longitudes de onda, se desplazan por medio de una unidad móvil mediante un movimiento de rotación de la unidad móvil a lo largo de la disposición de los recipientes de muestras que contienen muestras, midiéndose propiedades ópticas de las muestras con distintas longitudes de onda.

La frecuencia de rotación de la unidad móvil se encuentra preferentemente en el intervalo entre aproximadamente 0,02 y aproximadamente 25 Hz, de manera especialmente preferente entre aproximadamente 0,2 y aproximadamente 10 Hz.

35 En otra forma de realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención se mide al menos una propiedad óptica de las muestras de manera continua. Esto puede realizarse mediante selección análoga de la unidad de medición sin embargo también mediante selección digital cuasi-continua con una alta tasa de selección, por ejemplo > 1000 Hz.

40 En otra forma de realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención se mide al menos una propiedad óptica de las muestras por medio de luz de una longitud de onda entre aproximadamente 300 nm y aproximadamente 1100 nm. Preferentemente se encuentra la longitud de onda en 340 nm, 405 nm, 470 nm, 600 nm, 800 nm o 850 nm.

45 En otra forma de realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención se mezcla completamente una o se mezclan completamente varias muestras o bien mezclas de muestra-reactivo en los recipientes de muestras antes y/o durante el estudio fotométrico. El mezclado completo puede realizarse debido a que se acciona un pasador magnético o ferromagnético en el recipiente de muestras por medio de un campo electromagnético giratorio y/u oscilante. Preferentemente, la velocidad de mezclado se encuentra en un intervalo entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 1500 rpm (revoluciones por minuto).

50 El procedimiento de acuerdo con la invención es adecuado en particular para el estudio fotométrico de muestras de líquido corporal, preferentemente de muestras de sangre, plasma y/o suero y puede usarse preferentemente para la determinación de parámetros de coagulación y/o fibrinólisis, es decir para las mediciones de hemostasia y/o hemólisis.

## DIBUJOS

55 La figura 1 muestra una representación esquemática de un dispositivo para el estudio fotométrico de muestras. En este ejemplo, el dispositivo 10 es parte de un aparato de análisis. Éste presenta una unidad de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas 11 cilíndrico con ocho medios 15 para la sujeción de recipientes de muestras, una unidad de medición (en este caso un fotómetro), que presenta un LED 12 y un fotodiodo 13, y una unidad móvil 14. El alojamiento de cubetas 11 cilíndrico está configurado de manera estacionaria y el LED 12 y el fotodiodo 13 están dispuestos en la unidad móvil 14 de modo que el LED 12 da vueltas alrededor de las cubetas

5 posicionadas en los medios de sujeción 15 desde el exterior y el fotodiodo 13 da vueltas alrededor de las cubetas desde el interior. Para el estudio fotométrico de muestras en las cubetas mide la unidad de medición constituida por LED 12 y fotodiodo 13 de manera continua la intensidad del haz de luz que atraviesa la muestra, y por consiguiente – con conocimiento de un parámetro de referencia correspondiente – la absorción. A este respecto se mueve la unidad móvil por ejemplo continuamente con 2 Hz en el sentido de las agujas del reloj. Así se mide en el momento  $t_1$  una muestra y en el momento  $t_2$  la siguiente muestra

10 Como alternativa puede moverse la unidad móvil también en contra del sentido de las agujas del reloj o puede modificarse la dirección de movimiento. Igualmente como alternativa puede realizar la unidad de medición también mediciones de reflexión, difracción, fluorescencia, fosforescencia y/o dispersión. El experto sabe cómo tiene que construir, para estos otros principios de medición, la unidad de medición en el caso particular.

15 La figura 2 muestra una representación esquemática del proceso de medición continuo de acuerdo con la figura 1. Las barras grises representan en cada caso el espacio de tiempo, dentro del cual el haz de medición de la unidad de medición pasa una cubeta. En el momento  $t_1$ , en el que se mide precisamente el contenido de una cubeta, o sea una muestra, es constante la señal medida. Por el contrario, cuando se encuentra el haz de medición precisamente entre dos cubetas, es la señal producida claramente más heterogénea, dado que la luz del LED refracta en bordes de vidrio de las cubetas o espacios intermedios de aire. Tan pronto como se haya alcanzado de nuevo una posición de cubeta, en este caso  $t_2$  (véase la figura 1), se vuelve de nuevo más homogénea la señal.

20 De esta manera puede, el software de evaluación puede asignar los valores medidos a las cubetas (muestras) y puede diferenciar entre valores de medición que pertenecen a muestras y aquellos que se han tomado entre muestras.

25 Como alternativa, un dispositivo de evaluación reconoce siempre la disposición espacial de unidad de medición y recipientes de muestras, uno con respecto a otro, por ejemplo a través de ángulos conocidos y velocidades angulares, y puede asignar por tanto en cualquier momento la señal generada a un determinado sitio. Así pueden diferenciarse por ejemplo señales generadas por cantos de vidrio o espacios intermedios de luz de verdaderas señales de medición generadas mediante una muestra.

A este respecto puede estar previsto además que al menos una parte de los valores de medición obtenidos se promedie por un determinado intervalo de tiempo para elevar la precisión de medición.

En una unidad de soporte de muestras con 25 cubetas y una frecuencia de rotación de 2 Hz pasa el haz de medición cada cubeta por ejemplo 2 veces por segundo.

30 Si se registra la señal de medición con una tasa de muestreo de 1 kHz, se toman a este respecto por tanto por vuelta 500 valores de medición, de los que una parte – por ejemplo el 50 % - se generó entre las cubetas o en sus bordes de vidrio. En consecuencia se toman por vuelta 250 valores de medición que pueden evaluarse, es decir “auténticos”, lo que corresponde en el caso de 25 cubetas en la unidad de soporte de muestras a 10 valores de medición “auténticos” por cubeta. A este respecto puede estar previsto, por ejemplo, que en cada caso se rechazan los tres primeros valores de medición “auténticos”, se promedian los siguientes cuatro y se rechazan los últimos tres. A este respecto se registra la señal de medición con una tasa de muestreo tan alta que el fotómetro pueda registrar un número suficiente de valores de medición durante el movimiento a la posición de la cubeta estacionaria, que son necesarios para la determinación del parámetro de medición. Si el procedimiento de acuerdo con la invención debe realizarse con varias unidades de medición con distintas longitudes de onda, se realiza el procedimiento descrito anteriormente de manera simultánea en dos canales de muestreo.

La técnica actual permite además tasas de muestreo considerablemente más altas, lo que permite al fin y al cabo mediante medios más anchos una precisión de medición más alta.

35 La figura 3 muestra una sección transversal de un dispositivo para el estudio fotométrico de muestras. En este ejemplo presenta el dispositivo 30 una unidad de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas 31 cilíndrico para cubetas 35, una unidad de medición en forma de un fotómetro que presenta un LED 32 y un fotodiodo 33 y una unidad móvil 34. El alojamiento de cubetas 31 cilíndrico está configurado de manera estacionaria y el LED32 y el fotodiodo 33 están dispuestos en la unidad móvil 34, dando vueltas durante la medición el LED32 alrededor de las cubetas 35 desde el exterior y dando vueltas el fotodiodo 33 alrededor de las cubetas 35 desde el interior. La unidad móvil 34 está dispuesta por debajo del alojamiento de cubetas 31 cilíndrico. Debido a ello es posible en cada momento acceder a las cubetas 35, por ejemplo por medio de un brazo manipulador.

40 La figura 4 muestra una forma de realización del dispositivo de acuerdo con la invención para el estudio fotométrico de muestras. La forma de realización corresponde al dispositivo de la figura 1 con la diferencia de que en este caso se encuentran tras unidades de medición en lugar de solo una. En detalle presenta el dispositivo 40 una unidad de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas 41 cilíndrico con ocho medios 45 para la sujeción de recipientes de muestras en forma de cubetas, tres unidades de medición en forma de fotómetros que presentan en cada caso un LED 42 y un fotodiodo 43, y una unidad móvil 44. De manera conveniente tienen los LED distintas longitudes de onda, para que puedan medirse las muestras con varias longitudes de onda. El alojamiento de cubetas 41 cilíndrico está configurado de manera estacionaria, es decir de manera que no puede moverse y los LED 42 y los

fotodiodos 43 están dispuestos en la unidad móvil 44 de modo que los LED 42 dan vueltas alrededor de las cubetas posicionadas en los medios de sujeción 45 desde el exterior y los fotodiodos 43 dan vueltas alrededor de las cubetas desde el interior. Como alternativa puede presentar la unidad móvil más de tres unidades de medición – por ejemplo cinco. Los fotodiodos pueden estar sustituidos como alternativa por un elemento CCD.

5 La figura 5 muestra otro dispositivo con disposición concéntrica de los recipientes de muestras en dos filas. A este respecto presenta el dispositivo 50 una unidad de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas 51 cilíndrico con dieciséis medios 55 para la sujeción de recipientes de muestras en forma de cubetas, una unidad de medición que presenta un LED 52 y un fotodiodo 53, y una unidad móvil 54. El alojamiento de cubetas 51 cilíndrico está configurado de manera estacionaria. Mediante la disposición de las cubetas en dos filas circulares concéntricas  
10 puede elevarse en total la densidad de las cubetas y con ello el número de muestras que van a someterse a ensayo.

La figura 6 muestra una representación tridimensional de un dispositivo 60 de acuerdo con la invención. Éste presenta una unidad de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas 61 cilíndrico para veinticinco recipientes de muestras en forma de cubetas 65, y cinco unidades de medición, en cada caso que están constituidas por un soporte 62 exterior para el alojamiento de un fotodetector en forma de un fotodiodo y un soporte 72 interior para el alojamiento de una fuente de luz en forma de un LED, que están dispuestos en una unidad móvil común. El alojamiento de cubetas 61 cilíndrico está configurado de manera estacionaria, es decir de manera que no puede moverse. La unidad móvil está dispuesta por debajo del alojamiento de cubetas 61 cilíndrico. Así puede establecerse el acceso posible en cualquier momento ventajoso a todas las cubetas de la manera más sencilla con la medición continua. Hay que añadir que así durante el proceso de medición pueden pipetearse reactivos de manera más o  
15 20 menos continua en los recipientes de muestras.

En desviaciones de las figuras puede estar previsto además que los LED den vueltas alrededor de las cubetas desde el interior y los fotodiodos den vueltas alrededor de las cubetas desde el exterior.

#### LISTA DE NÚMEROS DE REFERENCIA

10	dispositivo para el estudio fotométrico de muestras
25	11 dispositivo de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas cilíndrico
	12 fuente de luz en forma de un LED
	13 fotodetector en forma de un fotodiodo
	14 unidad móvil
	15 medios para la sujeción de recipientes de muestras
30	30 dispositivo para el estudio fotométrico de muestras
	31 dispositivo de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas cilíndrico
	32 fuente de luz en forma de un LED
	33 fotodetector en forma de un fotodiodo
	34 unidad móvil
35	35 recipiente de muestras en forma de una cubeta
	40 dispositivo para el estudio fotométrico de muestras
	41 dispositivo de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas cilíndrico
	42 fuente de luz en forma de un LED
	43 fotodetector en forma de un fotodiodo
40	44 unidad móvil
	45 medios para la sujeción de recipientes de muestras
	50 dispositivo para el estudio fotométrico de muestras
	51 dispositivo de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas cilíndrico
	52 fuente de luz en forma de un LED
45	53 fotodetector en forma de un fotodiodo
	54 unidad móvil
	55 medios para la sujeción de recipientes de muestras
	60 dispositivo para el estudio fotométrico de muestras
	61 dispositivo de soporte de muestras en forma de un alojamiento de cubetas cilíndrico
50	62 soporte exterior para el alojamiento de un fotodetector
	65 recipiente de muestras en forma de una cubeta
	72 soporte interior para el alojamiento de una fuente de luz

#### EJEMPLOS

55 El dispositivo de acuerdo con la invención se realizó de la siguiente manera para demostrar la viabilidad y la funcionalidad.

## ES 2 745 106 T3

- 5 En este ejemplo se realiza una medición de absorción o bien de extinción/enturbiamiento ( $I$ ,  $I_0$ ) para controlar la hemostasia en una muestra de sangre. La unidad de soporte de muestras está diseñada para 25 cubetas que están dispuestas en forma de arco circular en la unidad de soporte de muestras. En 4 posiciones de la unidad de soporte de muestras está dispuesta en cada caso una unidad de mezclado en forma de un agitador magnético. Además contiene el dispositivo cinco fotómetros, en cada caso uno para la medición en las longitudes de onda 340 nm, 405 nm, 470 nm, 600 nm y 850 nm.

Longitud de onda	Parámetro de medición
340 nm	NADH
405 nm	(p) nitroanilina para la detección de trombina
470 nm	hemoglobina
600 nm	ensayo de coagulación
850 nm	medición del enturbiamiento

- 10 Los fotómetros están dispuestos en una unidad móvil que da vueltas alrededor de los recipientes de muestras con una velocidad de 2 Hz. El accionamiento se realiza preferentemente a través de un motor paso a paso.

- 15 Uno de los 25 recipientes de muestras sirve como recipiente control para la determinación de  $I_0$  y se ha llenado por tanto únicamente con solución de referencia. La tasa de selección de las unidades de medición asciende a 150 kHz, es decir en una órbita predeterminada se toman por cubeta y vuelta 3000 valores de medición. A partir de éstos se define un intervalo promedio, por el que se calcula de nuevo un valor promedio que refleja la absorción de la muestra para la longitud de onda dada.

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo (40, 60) para el estudio fotométrico de muestras, en el que el término "estudio fotométrico" comprende mediciones de absorción, reflexión, difracción, fluorescencia, fosforescencia, quimioluminiscencia y/o dispersión con ondas electromagnéticas, presentando el dispositivo al menos una unidad de soporte de muestras (31, 61), que presenta medios (45) para la sujeción de al menos dos recipientes de muestras y en el que los medios (45) para la sujeción de los recipientes de muestras están dispuestos en disposición a modo de arco circular en la unidad de soporte de muestras (41, 61), y una unidad móvil (44), en el que están dispuestas en la unidad móvil (44) varias unidades de medición y por medio de la unidad móvil pueden desplazarse de manera circundante con respecto a la disposición a modo de arco circular en cuestión, en el que cada unidad de medición presenta al menos una fuente de luz (42) y al menos un fotodetector (43), y en el que las unidades de medición presentan distintas longitudes de onda, caracterizado porque la al menos una unidad de soporte de muestras (31, 61) está configurada de manera estacionaria, es decir de manera que no puede moverse.
2. Dispositivo (40, 60) de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque la fuente de luz (42) presenta un diodo de emisión de luz o un diodo láser.
3. Dispositivo (40, 60) de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque las unidades de medición están configuradas de modo que éste puede medir de manera continua durante el estudio fotométrico de muestras con ayuda de la unidad móvil (44).
4. Dispositivo (40, 60) de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la unidad móvil (44) está dispuesta por debajo de la unidad de soporte de muestras (41).
5. Dispositivo (40, 60) de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el dispositivo (40, 60) presenta además al menos una unidad de mezclado, preferentemente una unidad de mezclado magnética, dispuesta en la unidad de soporte de muestras (41, 61).
6. Dispositivo (40, 60) de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado porque el dispositivo (40, 60) presenta varias unidades de mezclado.
7. Procedimiento para el estudio fotométrico de muestras por medio de un dispositivo (40, 60) según una de las reivindicaciones 1 a 6, en el que los al menos dos recipientes de muestras que contienen muestras están dispuestos a modo de arco circular en la unidad de soporte de muestras (41, 61) y en el que la unidad de soporte de muestras (41, 61) se sujeta de manera inmóvil y las varias unidades de medición, que presentan distintas longitudes de onda, se desplazan por medio de la unidad móvil (44) mediante un movimiento de rotación de la unidad móvil (44) a lo largo de la disposición de los recipientes de muestras que contienen muestras, midiéndose propiedades ópticas de las muestras con distintas longitudes de onda.
8. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la frecuencia de rotación de la unidad móvil (44) se encuentra en el intervalo entre aproximadamente 0,02 y aproximadamente 25 Hz, preferentemente entre aproximadamente 0,2 y aproximadamente 10 Hz.
9. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 7 a 8, en el que se mide de manera continua al menos una propiedad óptica de las muestras.
10. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 7 a 9, en el que se mide al menos una propiedad óptica de las muestras por medio de luz de una longitud de onda entre aproximadamente 300 nm y aproximadamente 1100 nm.
11. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 7 a 10, en el que una o varias muestras se mezclan completamente en los recipientes de muestras antes y/o durante el estudio fotométrico, preferentemente debido a que se acciona un pasador magnético o ferromagnético en el recipiente de muestras por medio de un campo electromagnético giratorio y/u oscilante.
12. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la velocidad de mezclado se encuentra en un intervalo entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 1500 rpm.
13. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 7 a 12 para el estudio fotométrico de muestras de líquido corporal, preferentemente de muestras de sangre, plasma y/o suero.
14. Aparato de análisis para el estudio automatizado de muestras líquidas que comprende al menos un dispositivo para la alicuotización de líquidos de muestras en un recipiente de muestras, al menos un dispositivo para la alicuotización de líquidos de reactivos en un recipiente de muestras así como medios para el control de estos dispositivos, presentando éste además un dispositivo (40, 60) para el estudio fotométrico de muestras de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6.

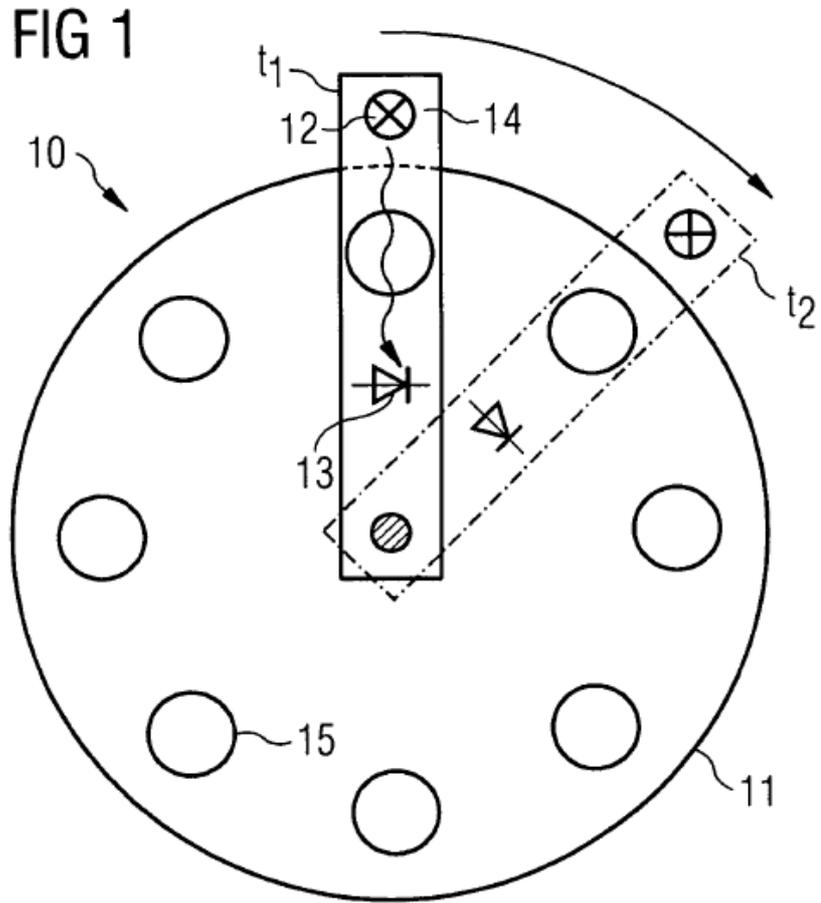


FIG 2

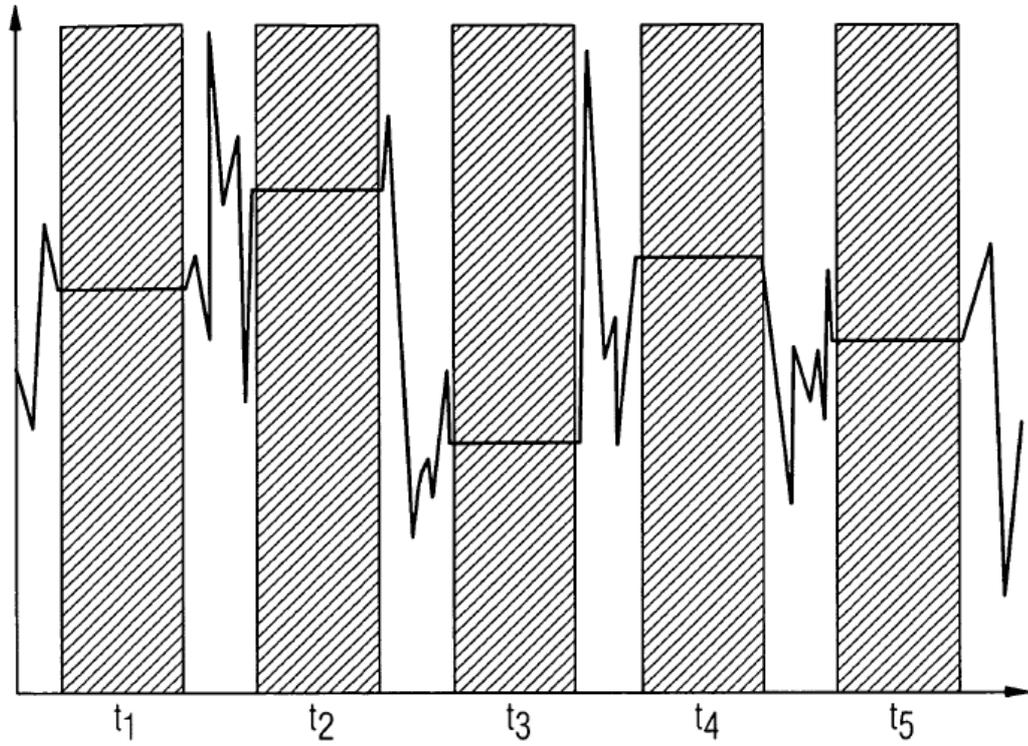


FIG 3

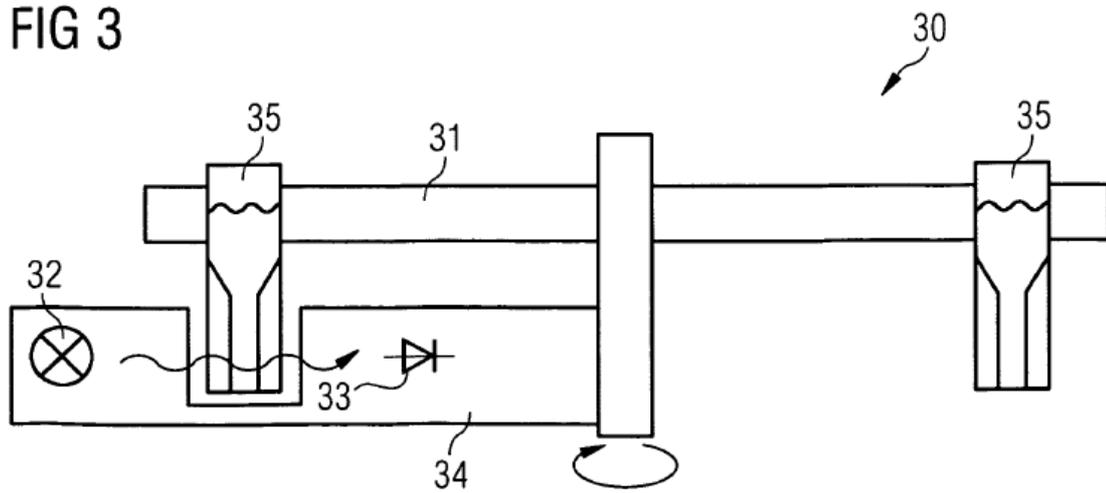


FIG 4

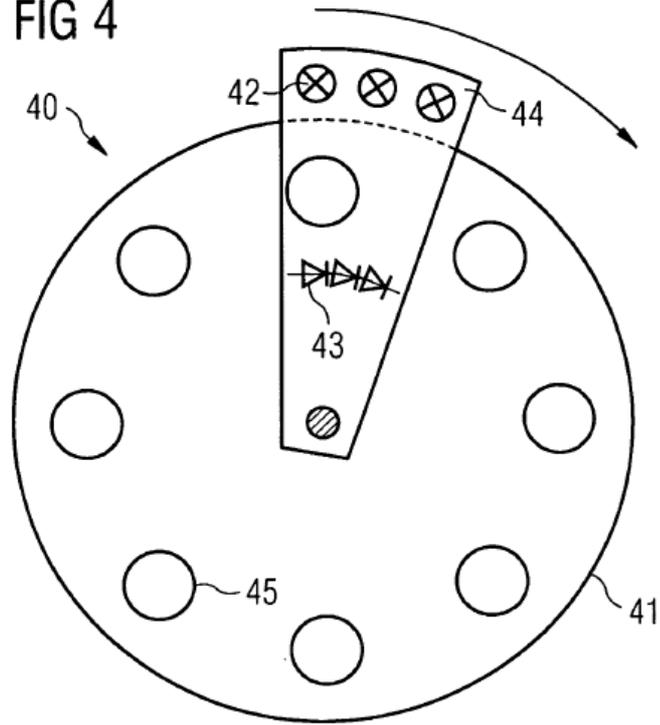


FIG 5

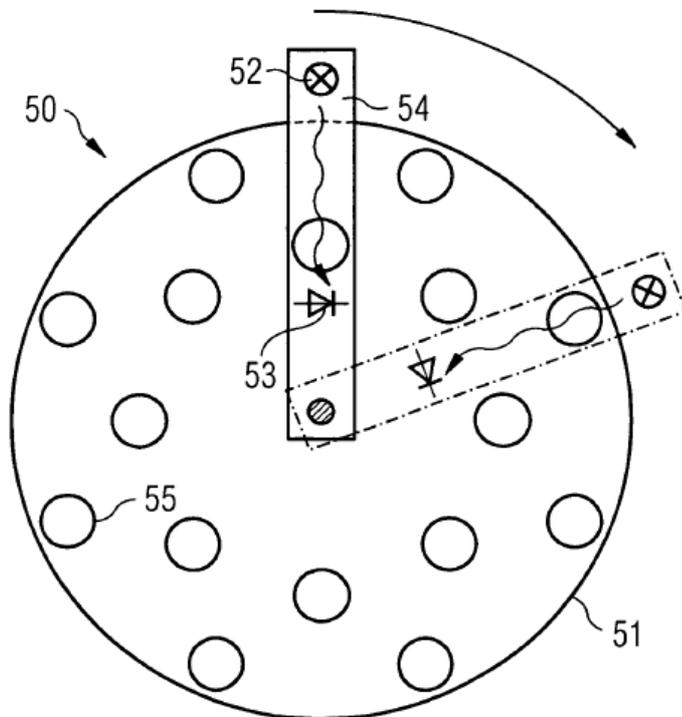


FIG 6

