

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 772 453**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/49** (2006.01)

**G01N 15/00** (2006.01)

**G01N 15/10** (2006.01)

**G01N 15/12** (2006.01)

**G01N 15/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.12.2013 PCT/US2013/078543**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2014 WO14106270**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.12.2013 E 13824578 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 2939001**

54 Título: **Sistemas y métodos para el recuento de plaquetas con ajuste de agregaciones**

30 Prioridad:

**31.12.2012 US 201261747655 P**

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

**07.07.2020**

73 Titular/es:

**BECKMAN COULTER, INC. (100.0%)  
250 S. Kraemer Boulevard  
Brea, CA 92821, US**

72 Inventor/es:

**ZHANG, SHULIANG;  
ROSSMAN, MARK;  
LU, JIULIU y  
RILEY, JOHN**

74 Agente/Representante:

**DEL VALLE VALIENTE, Sonia**

ES 2 772 453 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

Sistemas y métodos para el recuento de plaquetas con ajuste de agregaciones

### 5 Antecedentes de la invención

Esta invención se refiere al campo del diagnóstico médico y más específicamente a sistemas y a métodos para enumerar plaquetas en una muestra biológica de un paciente.

10 Las plaquetas desempeñan una función fisiológica importante en el organismo. Por ejemplo, la actividad plaquetaria está implicada en la coagulación de la sangre y la reparación de las heridas. Diversos estados patológicos pueden tener un efecto sobre la cantidad de plaquetas presentes dentro de la sangre de un individuo. Por tanto, una prueba de recuento de plaquetas puede proporcionar una indicación importante del estado de salud de un paciente. Por ejemplo, pueden usarse recuentos de plaquetas para monitorizar o diagnosticar enfermedades que implican  
15 coagulación o hemorragia excesivas.

En ocasiones, pueden formarse agregaciones plaquetarias en un vial de muestra de prueba antes de suministrarse la muestra a un instrumento de recuento de plaquetas para su análisis. Como resultado, el recuento de plaquetas (PLT) que se obtiene puede ser artificialmente bajo. Para abordar esta cuestión, algunos analizadores actuales activan un indicador para alertar al usuario sobre un posible recuento erróneo como resultado de agregación, y los usuarios pueden contar entonces las PLT con una revisión de portaobjetos manual.  
20

Por tanto, aunque actualmente están disponibles sistemas y métodos de análisis de plaquetas y proporcionan beneficios reales para pacientes que lo necesitan, todavía pueden realizarse muchos avances para proporcionar dispositivos y métodos mejorados para evaluar el estatus de plaquetas en un individuo. Realizaciones de la presente invención proporcionan soluciones que abordan estos problemas y por tanto proporcionan respuestas a al menos algunas de estas necesidades destacadas.  
25

El documento US 2009/0238439 A1 se refiere a un método de enumeración de plaquetas dentro de una muestra de sangre, en el que se diferencian plaquetas y agregaciones plaquetarias de los glóbulos blancos (WBC). En el documento US 2009/0238439 A1, se enumeran plaquetas y células en agregaciones plaquetarias, en el que el número de plaquetas dentro de la agregación se determina dividiendo la intensidad de emisión de fluorescencia integrada entre la emisión de plaqueta promedio o dividiendo el área de la agregación entre el área de plaqueta promedio.  
30

35 "Laboratory #10: Manual Differential", 1 de enero de 2002, describe métodos para determinar recuentos de glóbulos blancos relativos y absolutos en un frotis de sangre.

El documento US2012/0262703 A1 se refiere a un método de determinación de un volumen de una plaqueta.  
40

El documento WO98/02727 se refiere a métodos para distinguir y diferenciar células en una muestra de sangre completa.  
45

El documento US 6.133.995 se refiere a un dispositivo de medición de partículas.

### Breve resumen de la invención

La invención se define en las reivindicaciones. Realizaciones de la presente invención proporcionan técnicas mejoradas para analizar condiciones o parámetros de plaquetas en un individuo. Por ejemplo, determinadas realizaciones abarcan sistemas y métodos para la corrección del recuento de plaquetas para tener en cuenta la pérdida en agregaciones plaquetarias. Tales técnicas pueden emplear diversas combinaciones de parámetros de hemograma completo (CBC) además de parámetros de volumen, conductividad y dispersión (VCS), para proporcionar enfoques de examen fiables que evalúan condiciones de plaquetas de pacientes o individuos en la población general. Por ejemplo, sistemas y métodos de diagnóstico pueden proporcionar una predicción temprana y precisa sobre si un individuo tiene recuentos o parámetros de plaquetas normales o anómalos. Tales técnicas de análisis de plaquetas pueden implicar calcular directamente determinadas medidas de plaquetas, tales como recuento de plaquetas y números de plaquetas contenidos en agregaciones plaquetarias.  
50

En determinadas realizaciones, puede combinarse la salida obtenida a partir de módulos de módulos de CBC y NRBC para derivar un recuento de plaquetas que se compensa con respecto a acontecimientos de recuento de plaquetas que de lo contrario pueden perderse debido a la presencia de agregaciones plaquetarias. Por ejemplo, un recuento de plaquetas tal como se notifica mediante un módulo de CBC (por ejemplo recuento de plaquetas sin agregar individuales) puede combinarse con un recuento de plaquetas perdidas (por ejemplo recuento de plaquetas que se producen en agregaciones) que se estima basándose en datos a partir de un módulo de NRBC, para proporcionar un recuento de plaquetas corregido. Diversas técnicas usadas para obtener un recuento de plaquetas corregido pueden usar diferentes maneras para calcular el número de plaquetas que se producen en una agregación  
60  
65

individual. Por ejemplo, algunos métodos pueden implicar calcular el número promedio de plaquetas por agregación. Otros métodos pueden implicar calcular el número más probable de plaquetas en una agregación para diferentes tamaños de agregación basándose en una distribución de la probabilidad, y sumar todo el intervalo de tamaños de agregación para obtener el resultado.

Pueden evaluarse muestras de sangre de pacientes que están al cuidado de un médico usando un sistema de hematología que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología. Empleando las técnicas dadas a conocer en el presente documento, los hemopatólogos y médicos pueden predecir mejor el pronóstico de la enfermedad para cada paciente individual, evaluar la probabilidad de complicaciones futuras, y adaptar de manera rápida y precisa la terapia ofrecida a los pacientes.

El analizador de hematología puede reconocer directamente características morfológicas indicativas de tipos de componentes sanguíneos tales como glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas. Tal como se comenta en otra parte en el presente documento, esta tecnología recopila simultáneamente datos sobre diversos parámetros que están directamente correlacionados con la morfología celular o ciertos acontecimientos celulares. A medida que se analizan componentes celulares, pueden representarse gráficamente en histogramas definiéndose su posición mediante diversos parámetros. Por ejemplo, dado que agregaciones plaquetarias y otras partículas celulares pueden tener diferentes características, pueden representarse gráficamente o segmentarse en diferentes regiones del histograma, formando por tanto poblaciones celulares. El número de acontecimientos en cada población puede usarse para generar un recuento. Además de tales recuentos, pueden calcularse por separado los valores de media y desviación estándar para los puntos de cada uno de diversos parámetros morfológicos (volumen, conductividad y cinco ángulos de dispersión de la luz). Como resultado, se genera una gran cantidad de datos directamente correlacionados con acontecimientos celulares. Esta información puede denominarse datos de VCS y puede presentarse en la pantalla del instrumento, así como exportarse automáticamente como archivo Excel. Realizaciones de la presente invención pueden incluir evaluar una muestra biológica de un individuo obteniendo un perfil para la muestra biológica que implica datos de VCS, opcionalmente en combinación con datos de CBC, y asignar un parámetro de plaquetas tal como un recuento de plaquetas o recuento de agregaciones plaquetarias a la muestra biológica basándose en los datos. Determinadas realizaciones también pueden incluir emitir una indicación de recuento relacionada con plaquetas. Una o más de estas etapas pueden realizarse por un analizador de hematología.

Realizaciones de la presente invención proporcionan resultados de examen de plaquetas rápidos y precisos. Usando los enfoques dados a conocer en el presente documento, es posible evaluar y predecir una condición de plaquetas en un individuo, usando información obtenida a partir de un sistema de análisis celular de múltiples parámetros. Tal como se da a conocer en el presente documento, sistemas de análisis celular a modo de ejemplo pueden medir simultáneamente parámetros tales como volumen, conductividad y/o múltiples ángulos de dispersión de la luz. Tales sistemas proporcionan un alto grado de resolución y sensibilidad para implementar técnicas de análisis celular. En algunos casos, los sistemas de análisis celular detectan dispersión de la luz en tres, cuatro, cinco o más intervalos angulares. Adicionalmente, los sistemas de análisis celular también pueden detectar señales a un ángulo de entre  $0^\circ$  y aproximadamente  $1^\circ$  a partir de la luz incidente, que corresponde a un parámetro de extinción de la luz conocido como pérdida de luz axial. Como ejemplo no limitativo, un analizador de hematología proporciona datos de detección de dispersión de la luz para múltiples ángulos (por ejemplo entre  $0^\circ$  -  $0,5^\circ$  para AL2, aproximadamente  $5,1^\circ$  para LALS, entre  $9^\circ$  -  $19^\circ$  para LMALS, y entre  $20^\circ$  -  $43^\circ$  para UMALS). Estas técnicas permiten un diagnóstico y tratamiento rápidos y precisos de pacientes que tienen parámetros de plaquetas anómalos, particularmente en situaciones en las que no están fácilmente disponibles pruebas más modernas.

Tales instrumentos de análisis de hematología pueden evaluar más de 8.000 células en cuestión de segundos, y las características morfológicas de volumen celular, granularidad citoplasmática, complejidad nuclear y densidad interna pueden evaluarse de manera cuantitativa. Pueden generarse reglas de decisión numéricas y usarse para implementar estrategias para predecir un estado o estatus de condición de plaquetas en un individuo. Por ejemplo, un estado o estatus de condición de plaquetas puede estar asociado con un recuento de plaquetas para el individuo, opcionalmente ajustado mediante un recuento estimado para plaquetas presentes en agregaciones. En algunos casos, el estado o la condición de plaquetas puede referirse a un recuento de plaquetas calculado o recuento de plaquetas total (corregido) para el individuo.

Por tanto, en el presente documento se describen sistemas y métodos para el diagnóstico o la monitorización de condiciones asociadas con plaquetas usando modelos de múltiples parámetros para la clasificación de enfermedades. Pueden analizarse patrones de cambio morfológico combinando información a partir de diversos parámetros medidos. Estos sistemas y métodos son muy adecuados para su uso en el análisis de parámetros de plaquetas para evaluar trastornos o condiciones asociados con recuentos de plaquetas inferiores a lo normal (por ejemplo trombocitopenia) tales como coagulación intravascular diseminada (DIC), anemia hemolítica, hiperesplenismo, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), leucemia, púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), enfermedad celiaca y deficiencia de vitamina K, así como trastornos o condiciones asociados con recuentos de plaquetas superiores a lo normal (por ejemplo trombocitosis) tales como anemia, leucemia mielógena crónica (CML), policitemia vera, y trombocitemia primaria. También pueden usarse sistemas y métodos de análisis de plaquetas tal como se dan a conocer en el presente documento para proporcionar indicadores de recuperación de médula en

pacientes después de quimioterapia y trasplante de células madre.

En un aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos para estimar un recuento de plaquetas en un individuo basándose en una muestra biológica obtenida a partir de sangre del individuo. Los sistemas a modo de ejemplo incluyen un elemento óptico que tiene una zona de interrogación de células, una trayectoria de flujo configurada para suministrar una corriente hidrodinámicamente enfocada de la muestra biológica hacia la zona de interrogación de células, un conjunto de electrodo configurado para medir la impedancia de corriente continua (CC) de células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, una fuente de luz orientada para dirigir un haz de luz a lo largo de un eje de haz para irradiar las células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, y un conjunto de detección de luz ópticamente acoplado a la zona de interrogación de células para medir luz dispersada por, y transmitida a través de, las células irradiadas de la muestra biológica. Según algunas realizaciones, el conjunto de detección de luz está configurado para medir una primera luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un primer intervalo de con respecto al eje de haz de luz, una segunda luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un segundo intervalo de ángulos con respecto al eje de haz de luz, en el que el segundo intervalo es diferente del primer intervalo, y una luz axial propagada a partir de las células irradiadas a lo largo del eje de haz. En determinadas realizaciones, el sistema está configurado para correlacionar un subconjunto de medidas de impedancia de CC, la primera luz propagada, la segunda luz propagada y la luz axial a partir de las células de la muestra biológica con una estimación de un recuento de plaquetas en el individuo. Tal como se define en las reivindicaciones, la estimación del recuento de plaquetas en el individuo incluye un recuento de plaquetas corregido basándose en un recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado. El recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado puede basarse en el subconjunto de medidas, y el subconjunto de medidas puede obtenerse mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados. En algunos casos, el recuento de plaquetas observadas se basa en datos obtenidos a partir de un módulo de hemograma completo. En algunos casos, la estimación del recuento de plaquetas en el individuo incluye un recuento de plaquetas estimado basado en un recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado. En algunos casos, la medida de CC se obtiene mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados, y el sistema está configurado para correlacionar la medida de impedancia de CC con la estimación del recuento de plaquetas del individuo. En algunos casos, la estimación del recuento de plaquetas en el individuo incluye un recuento de plaquetas estimado basado en un recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado. El recuento de plaquetas observadas puede basarse en datos obtenidos a partir de un módulo de hemograma completo, y el recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado puede basarse en datos obtenidos a partir de un módulo de glóbulos rojos nucleados. En algunos casos, el sistema incluye el módulo de hemograma completo. En algunos casos, la medida de impedancia de CC se obtiene mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados, y el sistema está configurado para correlacionar la medida de impedancia de CC con la estimación del recuento de plaquetas del individuo. En algunos casos, una medida de luz del subconjunto se obtiene mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados, y el sistema está configurado para correlacionar la medida de luz obtenida mediante el módulo de glóbulos rojos nucleados con la estimación del recuento de plaquetas del individuo. En algunos casos, una medida de luz del subconjunto se obtiene mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados, la medida de impedancia de CC se obtiene mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados, y el sistema está configurado para correlacionar la medida de impedancia de CC obtenida mediante el módulo de glóbulos rojos nucleados, la medida de luz obtenida mediante el módulo de glóbulos rojos nucleados, y un recuento de plaquetas obtenido mediante un módulo de hemograma completo con la estimación del recuento de plaquetas del individuo, en el que el estatus de plaquetas corresponde a un recuento de plaquetas corregido. En algunos casos, la medida de luz del subconjunto obtenida mediante el módulo de glóbulos rojos nucleados incluye una medida de dispersión de la luz a ángulo inferior rotada (RLALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio inferior extendido (ELMALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio superior rotada (RUMALS) o una medida de pérdida de luz axial (ALL). En algunos casos, la muestra biológica incluye una muestra de sangre del individuo.

En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos para estimar un recuento de plaquetas en un individuo basándose en una muestra biológica obtenida a partir de sangre del individuo. Los métodos a modo de ejemplo incluyen suministrar una corriente hidrodinámicamente enfocada de la muestra biológica hacia una zona de interrogación de células de un elemento óptico, medir, con un conjunto de electrodo, impedancia de corriente (CC) de células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, irradiar, con un haz electromagnético que tiene un eje, células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, medir, con un conjunto de detección de luz, una primera luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un primer intervalo de con respecto al eje de haz, medir, con el conjunto de detección de luz, una segunda luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un segundo intervalo de ángulos con respecto al eje de haz, siendo el segundo intervalo diferente del primer intervalo, medir, con el conjunto de detección de luz, luz axial propagada a partir de las células irradiadas a lo largo del eje de haz, y correlacionar un subconjunto de medidas de impedancia de CC, la primera luz propagada, la segunda luz propagada y la luz axial a partir de las células de la muestra biológica con un recuento de plaquetas estimado del individuo. Tal como se define en las reivindicaciones, el estatus de plaquetas estimado en el individuo incluye un recuento de plaquetas corregido basándose en un recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado, en el que el recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado se basa en el subconjunto de medidas, y en el que el subconjunto de medidas se obtiene mediante un módulo de glóbulos

rojos nucleados.

En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos para evaluar una muestra biológica de un individuo. Los métodos a modo de ejemplo incluyen obtener un perfil de datos de propagación de la luz actual para la muestra biológica, asignar una indicación de recuento de plaquetas a la muestra biológica basándose en el perfil de datos de propagación de la luz actual, y emitir la indicación de recuento de plaquetas asignada. Tal como se define en las reivindicaciones, la indicación de recuento de plaquetas incluye un recuento de plaquetas corregido basándose en un recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado, en el que el recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado se basa en el perfil de datos de propagación de la luz actual, y en el que el perfil de datos de propagación de la luz actual se obtiene mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados.

En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos automatizados para estimar un recuento de plaquetas de un individuo basándose en una muestra biológica obtenida a partir del individuo. Los sistemas a modo de ejemplo incluyen un conducto configurado para recibir y dirigir el movimiento de la muestra biológica a través de una abertura, un dispositivo de medición de dispersión y absorción de la luz configurado para emitir luz a través de la muestra biológica a medida que se mueve a través de la abertura y recopilar datos referentes a la dispersión y absorción de la luz, y un dispositivo de medición de corriente configurado para hacer pasar una corriente eléctrica a través de la muestra biológica a medida que se mueve a través de la abertura y recopilar datos referentes a la corriente eléctrica. En determinadas realizaciones, el sistema está configurado para correlacionar los datos referentes a la dispersión y absorción de la luz y los datos referentes a la corriente eléctrica con un recuento de plaquetas estimado del individuo. Tal como se define en las reivindicaciones, el recuento de plaquetas estimado del individuo incluye un recuento de plaquetas corregido basándose en un recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado, en el que el recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado se basa en los datos referentes a la dispersión y absorción de la luz y los datos referentes a la corriente eléctrica, y en el que los datos referentes a la dispersión y absorción de la luz y los datos referentes a la corriente eléctrica se obtienen mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados.

Algunas realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos automatizados para estimar un estatus de plaquetas de un individuo basándose en una muestra biológica obtenida a partir del individuo. Los sistemas a modo de ejemplo incluyen un medio de almacenamiento, un procesador y un transductor para obtener datos de dispersión de la luz, datos de absorción de la luz y datos de corriente para la muestra biológica a medida que la muestra pasa a través de una abertura, un medio de almacenamiento. Según la invención, el medio de almacenamiento incluye una aplicación informática que puede estar configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema use los datos de dispersión de la luz, los datos de absorción de la luz, los datos de corriente o una combinación de los mismos, para determinar un recuento de plaquetas estimado del individuo, y para emitir a partir del procesador información relacionada con el recuento de plaquetas estimado. Tal como se define en las reivindicaciones, el recuento de plaquetas estimado del individuo incluye un recuento de plaquetas corregido basándose en un recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado, en el que el recuento de plaquetas agregadas perdidas calculado se basa en los datos de corriente, y en el que los datos de corriente se obtienen mediante un módulo de glóbulos rojos nucleados.

En todavía otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos automatizados para estimar un recuento de plaquetas de un individuo basándose en una muestra biológica obtenida a partir del individuo. Los sistemas a modo de ejemplo incluyen un medio de almacenamiento, un procesador y un transductor para obtener datos de propagación de la luz actuales para la muestra biológica a medida que la muestra pasa a través de una abertura. El medio de almacenamiento incluye una aplicación informática que puede estar configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema use los datos de propagación de la luz actuales para determinar un recuento de plaquetas estimado del individuo tal como se define en las reivindicaciones, y para emitir a partir del procesador información relacionada con el recuento de plaquetas estimado.

En el presente documento también se describen sistemas y métodos para identificar si un individuo puede tener un estatus de plaquetas anómalo basándose en una muestra biológica obtenida a partir del individuo. Los sistemas a modo de ejemplo incluyen un medio de almacenamiento, un procesador y un transductor para obtener datos de dispersión de la luz, datos de absorción de la luz y datos de corriente para la muestra biológica a medida que la muestra pasa a través de una abertura. En determinadas realizaciones, el medio de almacenamiento incluye una aplicación informática que está configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema use un parámetro, que se basa en una o más medidas de los datos de dispersión de la luz, datos de absorción de la luz o datos de corriente, para determinar un estatus de plaquetas estimado del individuo, y para emitir a partir del procesador información de plaquetas relacionada con el estatus de plaquetas estimado del individuo.

En el presente documento también se describen sistemas y métodos para evaluar una muestra biológica obtenida a partir de un individuo. Los métodos a modo de ejemplo incluyen hacer pasar la muestra biológica a través de una abertura de un sistema de análisis de partículas, obtener datos de dispersión de la luz, datos de absorción de la luz y datos de corriente para la muestra biológica a medida que la muestra pasa a través de la abertura, determinar un perfil de datos de propagación de la luz actual para la muestra biológica basándose en los datos de dispersión de la

luz, los datos de absorción de la luz, los datos de corriente o una combinación de los mismos, asignar una indicación de estatus de plaquetas a la muestra biológica basándose en el perfil de datos de propagación de la luz actual, y emitir la indicación de estatus de plaquetas asignada.

5 En el presente documento también se describen sistemas y métodos automatizados para evaluar una muestra biológica de un individuo. Los métodos a modo de ejemplo incluyen obtener, usando un sistema de análisis de partículas, datos de dispersión de la luz, datos de absorción de la luz y datos de corriente para la muestra biológica a medida que la muestra pasa a través de una abertura, determinar un perfil de datos de propagación de la luz actual para la muestra biológica basándose en resultados de ensayo obtenidos a partir del sistema de análisis de partículas, determinar, usando un sistema informático, un estatus de plaquetas estimado para el individuo según un parámetro, en el que el parámetro se basa en una medida de datos de propagación de la luz actual del perfil de datos de propagación de la luz actual, y emitir el estatus de plaquetas estimado.

15 Tal como se define en las reivindicaciones, la presente invención se refiere a sistemas y métodos automatizados para estimar un recuento de plaquetas de un individuo. Los sistemas incluyen un medio de almacenamiento y un procesador. El medio de almacenamiento incluye una aplicación informática que puede estar configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema acceda a información referente a una muestra biológica del individuo, incluyendo información relacionada al menos en parte con una medida de pérdida de luz axial de la muestra, una medida de dispersión de la luz de la muestra, una medida de corriente de la muestra o una combinación de dos o más de las mismas, y use la información relacionada al menos en parte con la medida de pérdida de luz axial, la pluralidad de medidas de dispersión de la luz, la medida de corriente o la combinación de las mismas, para determinar un recuento de plaquetas estimado del individuo tal como se define en las reivindicaciones. La aplicación informática también puede estar configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema emita a partir del procesador información relacionada con el recuento de plaquetas estimado. En determinadas realizaciones, la medida de corriente comprende una medida de corriente de baja frecuencia de la muestra. En determinadas realizaciones, la medida de dispersión de la luz incluye una medida de dispersión de la luz a ángulo bajo, una medida de dispersión de la luz a ángulo medio inferior, una medida de dispersión de la luz a ángulo medio superior o una combinación de dos o más de las mismas. En determinadas realizaciones, un sistema puede incluir una fuente de haz electromagnético y un conjunto de sensor fotoeléctrico, en el que el conjunto de sensor fotoeléctrico se usa para obtener la medida de pérdida de luz axial. En determinadas realizaciones, un sistema puede incluir una fuente de haz electromagnético y un conjunto de sensor fotoeléctrico, en el que el conjunto de sensor fotoeléctrico se usa para obtener la medida de dispersión de la luz. En determinadas realizaciones, un sistema puede incluir una fuente de haz electromagnético y un conjunto de electrodo, en el que el conjunto de electrodo se usa para obtener la medida de corriente.

35 En otras realizaciones de la presente invención el medio de almacenamiento puede incluir una aplicación informática que está configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema acceda a datos de propagación de la luz actuales referentes a una muestra biológica del individuo, use los datos de propagación de la luz actuales para determinar un recuento de plaquetas estimado del individuo tal como se define en las reivindicaciones, y emita a partir del procesador información relacionada con el recuento de plaquetas estimado. En determinadas realizaciones, el procesador está configurado para recibir los datos de propagación de la luz actuales como entrada. En determinadas realizaciones, el procesador, el medio de almacenamiento, o ambos, están incorporados dentro de una máquina de hematología. En determinadas realizaciones, la máquina de hematología genera los datos de propagación de la luz actuales. En determinadas realizaciones, el procesador, el medio de almacenamiento, o ambos, están incorporados dentro de un ordenador, y el ordenador está en comunicación con una máquina de hematología. En determinadas realizaciones, la máquina de hematología genera la propagación de la luz actual. En determinadas realizaciones, el procesador, el medio de almacenamiento, o ambos, están incorporados dentro de un ordenador, y el ordenador está en comunicación remota con una máquina de hematología a través de una red. En determinadas realizaciones, la máquina de hematología genera los datos de propagación de la luz actuales. En determinadas realizaciones, los datos de propagación de la luz actuales incluyen una medida de pérdida de luz axial de la muestra, una medida de dispersión de la luz de la muestra, una medida de corriente de la muestra o una combinación de las mismas.

55 En el presente documento también se describen sistemas y métodos automatizados para evaluar el estatus fisiológico de un individuo. Los sistemas a modo de ejemplo incluyen un medio de almacenamiento y un procesador. El medio de almacenamiento puede incluir una aplicación informática que está configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema acceda a datos de propagación de la luz actuales referentes a una muestra biológica del individuo, y use un parámetro, que se basa en una medida de los datos de propagación de la luz actuales, para determinar el estatus fisiológico del individuo, en el que el estatus fisiológico determinado proporciona una indicación de si el individuo tiene un estatus de plaquetas normal. La aplicación informática también puede estar configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema emita a partir del procesador información relacionada con el estatus fisiológico del individuo.

65 En el presente documento también se describen sistemas y métodos para identificar si un individuo puede tener un estatus de plaquetas anómalo a partir de datos de sistema de hematología. Los sistemas a modo de ejemplo incluyen un medio de almacenamiento y un procesador. El medio de almacenamiento puede incluir una aplicación

informática que está configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema acceda a datos de propagación de la luz actuales de hematología referentes a una muestra de sangre del individuo, y use un parámetro, que se basa en una medida de los datos de propagación de la luz actuales de hematología, para determinar un estatus de plaquetas estimado del individuo. La aplicación informática también puede estar configurada, cuando se ejecuta por el procesador, para hacer que el sistema emita a partir del procesador información de plaquetas relacionada con el estatus de plaquetas estimado del individuo.

En el presente documento también se describen sistemas y métodos para evaluar una muestra biológica de un individuo. Los métodos a modo de ejemplo incluyen determinar un perfil de datos de propagación de la luz actual para la muestra biológica basándose en resultados de ensayo obtenidos a partir de un sistema de análisis de partículas que analiza la muestra, y determinar, usando un sistema informático, un estatus fisiológico para el individuo según un parámetro, en el que el parámetro se basa en una función de una medida de datos de propagación de la luz actual del perfil de datos de propagación de la luz actual, y en el que el estatus fisiológico proporciona una indicación de si el individuo tiene un estatus de plaquetas normal. Los métodos también pueden incluir emitir el estatus fisiológico.

En el presente documento también se describen sistemas y métodos para determinar un régimen de tratamiento para un paciente. Los métodos a modo de ejemplo incluyen acceder a un perfil de datos de propagación de la luz actual referente a una muestra biológica del paciente, y determinar, usando un sistema informático, un estatus de plaquetas estimado para el paciente basándose en el perfil de datos de propagación de la luz actual. Los métodos también pueden incluir determinar el régimen de tratamiento para el paciente basándose en el estatus de plaquetas estimado. Algunos métodos pueden incluir administrar el régimen de tratamiento al paciente. En determinadas realizaciones, el estatus de plaquetas estimado puede incluir una indicación positiva para una enfermedad relacionada con plaquetas.

En el presente documento también se describen sistemas y métodos para determinar un régimen de tratamiento para un individuo. Los métodos a modo de ejemplo pueden incluir acceder a un perfil de datos de propagación de la luz actual referente a una muestra biológica del individuo, y determinar, usando un sistema informático, un estatus fisiológico para el individuo según un parámetro, en los que el parámetro se basa en una medida de datos de propagación de la luz actual del perfil de datos de propagación de la luz actual, y en los que el estatus fisiológico corresponde a un estatus de plaquetas estimado. Los métodos a modo de ejemplo también pueden incluir determinar el régimen de tratamiento para el individuo basándose en el estatus fisiológico para el individuo.

Los sistemas a modo de ejemplo de la presente invención pueden incluir un elemento óptico que tiene una zona de interrogación de células, una trayectoria de flujo configurada para suministrar una corriente hidrodinámicamente enfocada de la muestra biológica hacia la zona de interrogación de células, un conjunto de electrodo configurado para medir la impedancia de corriente continua (CC) de células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, una fuente de luz orientada para dirigir un haz de luz a lo largo de un eje de haz para irradiar las células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, y un conjunto de detección de luz ópticamente acoplado a la zona de interrogación de células. En determinadas realizaciones, el conjunto de detección de luz puede incluir una primera región de sensor dispuesta en una primera ubicación con respecto a la zona de interrogación de células que detecta una primera luz propagada, una segunda región de sensor dispuesta en una segunda ubicación con respecto a la zona de interrogación de células que detecta una segunda luz propagada, y una tercera región de sensor dispuesta en una tercera ubicación con respecto a la zona de interrogación de células que detecta una luz propagada axial. En determinadas realizaciones, el sistema está configurado para correlacionar un subconjunto de medidas de impedancia de CC, la primera luz propagada, la segunda luz propagada y la luz axial a partir de las células de la muestra biológica con un recuento de plaquetas estimado del individuo.

Los sistemas a modo de ejemplo de la presente invención pueden incluir un elemento óptico que tiene una zona de interrogación de células, una trayectoria de flujo configurada para suministrar una corriente hidrodinámicamente enfocada de la muestra biológica hacia la zona de interrogación de células, un conjunto de electrodo configurado para medir la impedancia de corriente continua (CC) de células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, una fuente de luz orientada para dirigir un haz de luz a lo largo de un eje de haz para irradiar las células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, y un conjunto de detección de luz ópticamente acoplado a la zona de interrogación de células para medir luz dispersada por, y transmitida a través de, las células irradiadas de la muestra biológica. El conjunto de detección de luz puede estar configurado para medir una primera luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un primer intervalo de con respecto al eje de haz de luz, una segunda luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un segundo intervalo de ángulos con respecto al eje de haz de luz, siendo el segundo intervalo diferente del primer intervalo, y una luz axial propagada a partir de las células irradiadas a lo largo del eje de haz. En determinadas realizaciones, el sistema está configurado para correlacionar un subconjunto de medidas de plaquetas de hemograma completo a partir de las células de la muestra biológica combinado con el subconjunto de medidas de impedancia de CC, la primera luz propagada, la segunda luz propagada y la luz axial con la estimación del estatus de plaquetas en el individuo. En algunos casos, el conjunto de detección de luz incluye una primera zona de sensor que mide la primera luz propagada, una segunda zona de sensor que mide la segunda

5 luz propagada, y una tercera zona de sensor que mide la luz propagada axial. En algunos casos, el conjunto de detección de luz incluye un primer sensor que mide la primera luz propagada, un segundo sensor que mide la segunda luz propagada y un tercer sensor que mide la luz propagada axial. En algunos casos, el sistema está configurado para correlacionar un subconjunto de medidas de hemograma completo a partir de las células de la muestra biológica combinado con el subconjunto de medidas de impedancia de CC, la primera luz propagada, la segunda luz propagada y la luz axial con la estimación del estatus de plaquetas en el individuo. En algunos casos, la muestra biológica es una muestra de sangre del individuo.

10 Según todos los aspectos de la presente invención, los sistemas y métodos de hematología para determinar un recuento de plaquetas en una muestra biológica incluyen un primer módulo configurado para determinar un recuento de agregaciones plaquetarias y un recuento de glóbulos blancos, un segundo módulo configurado para determinar un recuento de plaquetas observadas y una concentración de glóbulos blancos, y un módulo de procesamiento de datos en conectividad con el primer módulo y el segundo módulo, en los que el módulo de procesamiento de datos comprende un procesador y un medio tangible legible por ordenador, estando el medio legible por ordenador programado con una aplicación informática que, cuando se ejecuta por el procesador, hace que el procesador determine el recuento de plaquetas basándose en la suma del recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas perdidas en los que el recuento de plaquetas perdidas incluye un producto de multiplicación de un primer factor y un segundo factor, en los que el primer factor se basa en una estimación del número total de células plaquetarias que se producen en las agregaciones plaquetarias y el recuento de glóbulos blancos, y el segundo factor es la concentración de glóbulos blancos.

En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según el párrafo [0030], en los que el primer módulo es un módulo de volumen, conductividad y dispersión (VCS).

25 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según el párrafo [0030] o [0031], en los que el segundo módulo es un módulo de hemograma completo (CBC).

Según todos los aspectos de la presente invención el recuento de plaquetas es un recuento de plaquetas estimado corregido.

30 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según uno cualquiera de los párrafos [0030] a [0033], en los que el primer módulo incluye un elemento óptico que tiene una zona de interrogación de células, una trayectoria de flujo configurada para suministrar una corriente hidrodinámicamente enfocada de la muestra biológica hacia la zona de interrogación de células, un conjunto de electrodo configurado para medir la impedancia de corriente continua (CC) de células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, una fuente de luz orientada para dirigir un haz de luz a lo largo de un eje de haz para irradiar las células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, un conjunto de detección de luz ópticamente acoplado a la zona de interrogación de células para medir luz dispersada por, y transmitida a través de, las células irradiadas de la muestra biológica. El conjunto de detección de luz puede estar configurado para medir una primera luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un primer intervalo de con respecto al eje de haz de luz, una segunda luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un segundo intervalo de ángulos con respecto al eje de haz de luz, en el que el segundo intervalo es diferente del primer intervalo, y una luz axial propagada a partir de las células irradiadas a lo largo del eje de haz.

45 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según uno cualquiera de los párrafos [0030] a [0034], en los que el segundo módulo incluye un primer baño de abertura configurado para determinar el recuento de plaquetas observadas, y un segundo baño de abertura configurado para determinar la concentración de glóbulos blancos.

50 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según uno cualquiera de los párrafos [0030] a [0035], en los que el primer baño de abertura incluye un baño de abertura de glóbulos rojos y el segundo baño de abertura incluye un baño de abertura de glóbulos blancos.

55 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según uno cualquiera de los párrafos [0030] a [0036], en los que el primer módulo es un módulo de glóbulos rojos nucleados.

En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según uno cualquiera de los párrafos [0030] a [0037], en los que la muestra biológica incluye una muestra de sangre de un individuo.

60 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según uno cualquiera de los párrafos [0030] a [0038], en los que el recuento de plaquetas perdidas incluye un producto de multiplicación del primer factor, el segundo factor y un tercer factor, y en los que el primer módulo está configurado para determinar un volumen de agregación plaquetaria y el segundo módulo está configurado para determinar un volumen de plaqueta individual, incluyendo el tercer factor una razón del volumen de agregación plaquetaria con respecto al volumen de plaqueta individual, e incluyendo el primer factor una razón de la estimación del número total de células plaquetarias que se

producen en agregaciones plaquetarias con respecto al recuento de glóbulos blancos.

5 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según uno cualquiera de los párrafos [0030] a [0039], en los que el primer módulo está configurado para determinar el recuento de agregaciones plaquetarias basándose en una medida de luz que incluye una medida de dispersión de la luz a ángulo inferior rotada (RLALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio inferior extendido (ELMALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio superior rotada (RUMALS), una medida de pérdida de luz axial (ALL) o cualquier combinación de las mismas.

10 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según uno cualquiera de los párrafos [0030] a [0036], en los que el módulo de procesamiento de datos está configurado para determinar un número respectivo de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria basándose en una función de distribución de la probabilidad y para determinar un número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias basándose en una suma de los números respectivos de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria, y en los que el primer factor incluye una razón del número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias con respecto al recuento de glóbulos blancos.

20 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según el párrafo [0041], en los que el número respectivo de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria se basa en una estimación de la probabilidad máxima.

25 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas según [0040] o [0041], en los que el primer módulo está configurado para determinar el recuento de agregaciones plaquetarias basándose en una medida de impedancia de corriente (CC).

30 Tal como se define en las reivindicaciones, los métodos automatizados de la invención incluyen determinar, usando un primer módulo, un recuento de agregaciones plaquetarias y un recuento de glóbulos blancos, determinar, usando un segundo módulo, un recuento de plaquetas observadas y una concentración de glóbulos blancos, y determinar, usando un módulo de procesamiento de datos, el recuento de plaquetas basándose en la suma del recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas perdidas. El recuento de plaquetas perdidas incluye un producto de multiplicación de un primer factor y un segundo factor, en el que el primer factor se basa en una estimación del número total de células plaquetarias que se producen en las agregaciones plaquetarias y el recuento de glóbulos blancos, y el segundo factor es la concentración de glóbulos blancos, en el que además el módulo de procesamiento de datos comprende un procesador y un medio tangible legible por ordenador que está programado con una aplicación informática que, cuando se ejecuta por el procesador, hace que el procesador determine el recuento de plaquetas.

35 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según el párrafo [0044], en los que el primer módulo es un módulo de volumen, conductividad y dispersión (VCS).

40 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según el párrafo [0044] o [0045], en los que el segundo módulo es un módulo de hemograma completo (CBC).

45 Según todos los aspectos de la invención el recuento de plaquetas es un recuento de plaquetas estimado corregido.

50 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según uno cualquiera de los párrafos [0044] a [0047], en los que el procedimiento de determinar el recuento de agregaciones plaquetarias y el recuento de glóbulos blancos usando el primer módulo incluye suministrar una corriente hidrodinámicamente enfocada de la muestra biológica hacia una zona de interrogación de células de un elemento óptico, medir, con un conjunto de electrodo, impedancia de corriente (CC) de células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, irradiar, con un haz de luz que tiene un eje, células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células, medir, con un conjunto de detección de luz, una primera luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un primer intervalo de con respecto al eje de haz, medir, con el conjunto de detección de luz, una segunda luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un segundo intervalo de ángulos con respecto al eje de haz, en los que el segundo intervalo es diferente del primer intervalo, y medir, con el conjunto de detección de luz, luz axial propagada a partir de las células irradiadas a lo largo del eje de haz.

60 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según uno cualquiera de los párrafos [0044] a [0048], en los que el procedimiento de determinar el recuento de plaquetas observadas y la concentración de glóbulos blancos usando el segundo módulo incluye analizar la muestra biológica con un primer baño de abertura configurado para determinar el recuento de plaquetas observadas, y con un segundo baño de abertura configurado para determinar la concentración de glóbulos blancos.

65 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según uno cualquiera de los párrafos [0044] a [0049], en los que el primer baño de abertura incluye un baño de abertura de glóbulos rojos y el segundo

baño de abertura incluye un baño de abertura de glóbulos blancos.

En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según uno cualquiera de los párrafos [0044] a [0050], en los que el primer módulo es un módulo de glóbulos rojos nucleados.

5 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según uno cualquiera de los párrafos [0044] a [0051], en los que la muestra biológica comprende una muestra de sangre de un individuo.

10 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según uno cualquiera de los párrafos [0044] a [0052], incluyendo los métodos además el procedimiento de determinar un volumen de agregación plaquetaria usando el primer módulo y un volumen de plaqueta individual usando el segundo módulo, en los que el recuento de plaquetas perdidas incluye un producto de multiplicación del primer factor, el segundo factor y un tercer factor, en los que el tercer factor incluye una razón del volumen de agregación plaquetaria con respecto al volumen de plaqueta individual, y en los que el primer factor incluye una razón de la estimación del número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias con respecto al recuento de glóbulos blancos.

15 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según uno cualquiera de los párrafos [0044] a [0053], en los que el primer módulo está configurado para determinar el recuento de agregaciones plaquetarias basándose en una medida de luz que incluye una medida de dispersión de la luz a ángulo inferior rotada (RLALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio inferior extendido (ELMALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio superior rotada (RUMALS), una medida de pérdida de luz axial (ALL) o cualquier combinación de las mismas.

20 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según uno cualquiera de los párrafos [0044] a [0052], en los que el módulo de procesamiento de datos determina un número respectivo de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria basándose en una función de distribución de la probabilidad y determina un número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias basándose en una suma de los números respectivos de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria, y en los que el primer factor incluye una razón del número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias con respecto al recuento de glóbulos blancos.

25 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según el párrafo [0055], en los que el módulo de procesamiento de datos determina el número respectivo de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria basándose en una estimación de la probabilidad máxima.

30 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan métodos según el párrafo [0055] o [0056], en los que el primer módulo determina el acontecimiento de agregación plaquetaria basándose en una medida de impedancia de corriente (CC).

35 Las características y ventajas relacionadas descritas anteriormente y muchas otras de realizaciones de la presente invención resultarán evidentes y se entenderán adicionalmente mediante referencia a la siguiente descripción detallada cuando se considera junto con los dibujos adjuntos.

**Breve descripción de los dibujos**

40 Las figuras 1A a 1C ilustran aspectos de recuento y análisis de plaquetas, según realizaciones de la presente invención.

45 La figura 2 representa esquemáticamente aspectos de un sistema de análisis celular, según realizaciones de la presente invención.

50 La figura 3 proporciona un diagrama de bloques de sistema que ilustra aspectos de un sistema de análisis celular según realizaciones de la presente invención.

55 La figura 4 ilustra aspectos de un sistema de análisis celular automatizado para evaluar el estatus de plaquetas de un individuo, según realizaciones de la presente invención.

60 La figura 4A muestra aspectos de un elemento óptico de un sistema de análisis celular, según realizaciones de la presente invención.

65 La figura 5 representa aspectos de un método a modo de ejemplo para evaluar el estatus de plaquetas de un individuo, según realizaciones de la presente invención.

La figura 6 proporciona un diagrama de bloques simplificado de un sistema de módulos a modo de ejemplo, según realizaciones de la presente invención.

La figura 7 representa una captura de pantalla a modo de ejemplo de una técnica de análisis de recuento, según realizaciones de la presente invención.

5 Las figuras 7A a 7J muestran esquemáticamente aspectos de técnicas para obtener parámetros de células sanguíneas, según realizaciones de la presente invención.

La figura 8 ilustra aspectos de un método para determinar información de estatus de plaquetas basándose en una muestra biológica obtenida a partir de un individuo, según realizaciones de la presente invención.

10 Las figuras 9, 10A y 10B muestran aspectos de sistemas y métodos de análisis de células sanguíneas según realizaciones de la presente invención.

**Descripción detallada de la invención**

15 Con fines de explicación, y en resumen breve, las realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos que implican el uso de un módulo de glóbulos rojos nucleados (NRBC) en un analizador hematológico para obtener recuentos de plaquetas corregidos en cuanto a la agregación plaquetaria. Un analizador celular hematológico a modo de ejemplo puede incluir una fuente de luz que produce un haz de luz dirigido, estrecho, hacia una ventana en una celda de flujo. En diversas realizaciones no limitativas, la fuente de luz es un láser o un diodo de  
 20 láser, y un fluido portador porta células individuales a partir de una muestra de sangre a través de la celda de flujo permitiendo así que cada célula individual interactúe con el haz de luz. Puede usarse una pluralidad de sensores fotoeléctricos ubicados adyacentes a la celda de flujo para registrar la intensidad de luz dispersada a diversos ángulos mediante células que pasan a través de la celda de flujo. En determinadas realizaciones, un sensor fotoeléctrico está posicionado directamente en la trayectoria del haz de luz, y tres grupos de sensores fotoeléctricos  
 25 están posicionados para recopilar luz dispersada mediante las células a intervalos angulares predeterminados tal como se mide a partir de la trayectoria del haz de luz. Pueden transmitirse señales a partir de estos detectores a un procesador, digitalizarse, analizarse y presentarse los resultados.

30 Según algunas realizaciones, puede usarse un módulo de NRBC para analizar células sanguíneas de una muestra biológica obtenida a partir de un individuo. Determinadas técnicas de procesamiento de NRBC implican diluir una porción de una muestra de sangre completa y tratar la dilución con un reactivo de lisis que retira selectivamente glóbulos rojos no nucleados al tiempo que mantiene la integridad de NRBC, WBC y cualquier plaqueta o residuo celular que pueda estar presente. También se comentan técnicas de procesamiento de NRBC a modo de ejemplo en la patente estadounidense n.º 7.208.319.

35 Por tanto, en el presente documento se describen sistemas y métodos de hematología configurados para evaluar condiciones de estatus de plaquetas de un individuo, basándose en una muestra biológica obtenida a partir del individuo. La figura 1A proporciona una microfotografía electrónica de barrido de células sanguíneas, que incluye un glóbulo rojo (izquierda, eritrocito humano), plaqueta (parte central, trombocito) y glóbulo blanco (derecha, leucocito).  
 40 Cada uno de estos tres tipos de células sanguíneas se genera en la médula ósea. Las plaquetas se derivan a partir de megacariocitos, que son células grandes en la médula ósea. Los megacariocitos se extienden al interior de vasos pequeños de la médula ósea, y fragmentos del citoplasma de megacariocitos se liberan para formar plaquetas inmaduras. Las plaquetas maduran tras la liberación en la circulación sanguínea. Las plaquetas tienen un ciclo de vida de aproximadamente 7-10 días, y la formación y sustitución de plaquetas es un ciclo continuo. Las plaquetas desempeñan un papel importante en la hemostasia y formación de coágulos.

La figura 1B proporciona una ilustración esquemática de cuántas agregaciones pueden estar presentes o no en una muestra biológica. Por ejemplo, la muestra I no contiene ninguna agregación plaquetaria, mientras que las agregaciones plaquetarias están presentes en la muestra II. Tal como se muestra en este caso, pueden perderse artefactos de agregación en las mediciones de plaquetas cuando se analiza sangre con un sistema automatizado (por ejemplo, sólo se detectan plaquetas no agregadas como tales mediante la máquina), proporcionando por tanto un recuento impreciso, o requiriendo mediciones manuales que requieren mucho tiempo para obtener el recuento de plaquetas verdadero.

55 Tal como se representa en la figura 1C, pueden evaluarse diversos parámetros de plaquetas para evaluar el estatus de plaquetas de un individuo. Por ejemplo, las técnicas de evaluación a modo de ejemplo pueden implicar obtener un recuento observado de plaquetas en la sangre, así como un número estimado de plaquetas contenidas en agregaciones dentro de la muestra. Por tanto, realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos para enumerar y diferenciar plaquetas en una muestra de sangre usando un analizador de partículas. Los sistemas y  
 60 métodos de la invención estiman un recuento de plaquetas corregido estimando números de plaquetas contenidas en agregaciones plaquetarias, y después añadiendo este valor estimado al número de plaquetas real contado con el fin de obtener un recuento de plaquetas total (corregido). De manera relacionada, los sistemas y métodos de hematología comentados en el presente documento pueden evaluar si un individuo presenta parámetros de plaquetas normales o anómalos basándose en datos relacionados con ciertas medidas de impedancia, conductividad y propagación de la luz angular de una muestra biológica del individuo.

Pueden usarse sistemas de análisis celular que detectan dispersión de la luz a múltiples ángulos para analizar una muestra biológica (por ejemplo una muestra de sangre) y emitir un recuento de plaquetas predicho de un individuo. Los sistemas a modo de ejemplo están equipados con conjuntos de sensor que obtienen datos de dispersión de la luz para tres o más intervalos angulares, además de datos de transmisión de la luz asociados con una medida de extinción o pérdida de luz axial, y por tanto proporcionan resultados precisos, sensibles y de alta resolución sin requerir el uso de ciertas técnicas de colorante, anticuerpo o fluorescencia. En un caso, un analizador de hematología está configurado para analizar una muestra biológica (por ejemplo una muestra de sangre) basándose en múltiples ángulos de dispersión de la luz y emitir un recuento de plaquetas predicho de un individuo. El analizador de hematología incluye diversos módulos de procesamiento de canal que están configurados para reconocer las características morfológicas indicativas de componentes celulares dentro de la sangre. Por ejemplo, el analizador de hematología incluye un módulo de procesamiento de canal de NRBC que está configurado para analizar ciertos componentes de células sanguíneas. El analizador de hematología está configurado para generar una cantidad significativa de datos basándose en el análisis de la muestra, estos datos de este tipo, que se describen en detalle en el presente documento, pueden denominarse datos de CBC o datos de VCS.

En algunas realizaciones, los datos de VCS se basan en la determinación de diferentes parámetros para cada célula de la muestra analizada, correlacionándose tales parámetros con la morfología de cada célula. Específicamente, un parámetro de volumen correspondiente al tamaño de célula puede medirse directamente mediante impedancia. Además, un parámetro de conductividad correspondiente a la densidad celular interna puede medirse directamente mediante la conducción de ondas de radiofrecuencia a través de la célula. Aún más, pueden medirse cinco ángulos (o intervalos de ángulos) diferentes de dispersión de la luz correspondientes a la granularidad citoplasmática y la complejidad nuclear, por ejemplo, con diversos mecanismos de detección de luz.

La figura 2 representa esquemáticamente un sistema 200 de análisis celular. Tal como se muestra en este caso, el sistema 200 incluye un sistema 210 de preparación, un módulo 220 de transductor y un sistema 230 de análisis. Aunque el sistema 200 se describe en el presente documento a un nivel muy alto, con referencia a los tres bloques (210, 220 y 230) de sistema principales, el experto en la técnica entenderá fácilmente que el sistema 200 incluye muchos otros componentes de sistema tales como procesador(es) de control central(es), sistema(s) de presentación, sistema(s) fluidicos, sistema(s) de control de temperatura, sistema(s) de control de seguridad de usuario y similares. En funcionamiento, puede presentarse una muestra 240 de sangre completa (WBS) al sistema 200 para su análisis. En algunos casos, la WBS 240 se aspira al interior del sistema 200. El experto en la técnica conoce técnicas de aspiración a modo de ejemplo. Después de la aspiración, la WBS 240 puede suministrarse a un sistema 210 de preparación. El sistema 210 de preparación recibe la WBS 240 y puede realizar operaciones implicadas en la preparación de la WBS 240 para su medición y análisis adicionales. Por ejemplo, el sistema 210 de preparación puede separar la WBS 240 para dar alícuotas predefinidas para su presentación al módulo 220 de transductor. El sistema 210 de preparación también puede incluir cámaras de mezclado de modo que pueden añadirse reactivos apropiados a las alícuotas. Por ejemplo, cuando tiene que someterse a prueba una alícuota para la diferenciación de poblaciones de subconjuntos de glóbulos blancos, puede añadirse un reactivo de lisis (por ejemplo ERYTHROLYSE, un tampón de lisis de glóbulos rojos) a la alícuota para descomponer y retirar los RBC. El sistema 210 de preparación también puede incluir componentes de control de temperatura para controlar la temperatura de los reactivos y/o las cámaras de mezclado. Los controles de temperatura apropiados pueden mejorar la sistematicidad de las operaciones del sistema 210 de preparación.

En algunos casos, pueden transferirse alícuotas predefinidas desde el sistema 210 de preparación hasta el módulo 220 de transductor. Tal como se describe en más detalle a continuación, el módulo 220 de transductor puede realizar mediciones de impedancia de corriente continua (CC), conductividad de radiofrecuencia (RF), transmisión de la luz y/o dispersión de la luz de células a partir de la WBS que pasa de manera individual a través del mismo. Los parámetros medidos de impedancia de CC, conductividad de RF y propagación de la luz (por ejemplo transmisión de la luz, dispersión de la luz) pueden proporcionarse o transmitirse al sistema 230 de análisis para el procesamiento de datos. En algunos casos, el sistema 230 de análisis puede incluir características de procesamiento informático y/o uno o más módulos o componentes tales como los descritos en el presente documento con referencia al sistema representado en la figura 6 y descrito adicionalmente a continuación, que pueden evaluar los parámetros medidos, identificar y enumerar los constituyentes celulares de la sangre, y correlacionar un subconjunto de datos que caracterizan elementos de la WBS con un estatus de plaquetas del individuo. Tal como se muestra en este caso, el sistema 200 de análisis celular puede generar o emitir un informe 250 que contiene el estatus de plaquetas predicho y/o un régimen de tratamiento recomendado para el individuo. En algunos casos, el exceso de muestra biológica a partir del módulo 220 de transductor puede dirigirse a un sistema 260 de residuos externo (o alternativamente interno).

Los regímenes de tratamiento pueden implicar la administración de uno o más medicamentos o agentes terapéuticos a un individuo con fines de abordar la condición del paciente. Puede usarse cualquiera de una variedad de modalidades terapéuticas para tratar a un individuo que se identifica como que tiene un recuento de plaquetas anómalo tal como se describe en el presente documento.

La figura 3 ilustra en más detalle un módulo de transductor y componentes asociados en más detalle. Tal como se muestra en este caso, el sistema 300 incluye un módulo 310 de transductor que tiene una fuente de luz o irradiación

tal como un láser 310 que emite un haz 314. El láser 312 puede ser, por ejemplo, un láser de estado sólido de 635 nm y 5 mW. En algunos casos, el sistema 300 puede incluir un sistema 320 de alineación de enfoque que ajusta el haz 314 de tal manera que un haz 322 resultante se enfoca y se posiciona en una zona 332 de interrogación de células de una celda 330 de flujo. En algunos casos, la celda 330 de flujo recibe una alícuota de muestra a partir de un sistema 302 de preparación. Tal como se describe en otra parte en el presente documento, pueden emplearse diversos mecanismos y técnicas fluidicas para el enfoque hidrodinámico de la alícuota de muestra dentro de la celda 330 de flujo.

En algunos casos, la alícuota fluye generalmente a través de la zona 332 de interrogación de células de tal manera que sus constituyentes pasan a través de la zona 332 de interrogación de células de uno en uno. En algunos casos, un sistema 300 puede incluir una zona de interrogación de células u otra característica de un módulo de transductor o instrumento de análisis de sangre tal como los descritos en las patentes estadounidenses n.ºs 5.125.737; 6.228.652; 7.390.662; 8.094.299 y 8.189.187. Por ejemplo, una zona 332 de interrogación de células puede definirse por una sección transversal cuadrada que mide aproximadamente 50 x 50 micrómetros, y que tiene una longitud (medida en la dirección de flujo) de aproximadamente 65 micrómetros. La celda 330 de flujo puede incluir un conjunto de electrodo que tiene electrodos 334, 336 primero y segundo para realizar mediciones de impedancia de CC y conductividad de RF de las células que pasan a través de la zona 332 de interrogación de células. Pueden transmitirse señales a partir de los electrodos 334, 336 hasta el sistema 304 de análisis. El conjunto de electrodo puede analizar características de volumen y conductividad de las células usando corriente de baja frecuencia y corriente de alta frecuencia, respectivamente. Por ejemplo, pueden usarse medidas de impedancia de CC de baja frecuencia para analizar el volumen de cada célula individual que pasa a través de la zona de interrogación de células. De manera relacionada, pueden usarse medidas de medidas de corriente de RF de alta frecuencia para determinar la conductividad de células que pasan a través de la zona de interrogación de células. Dado que las paredes celulares actúan como conductores frente a la corriente de alta frecuencia, la corriente de alta frecuencia puede usarse para detectar diferencias en las propiedades aislantes de los componentes celulares, a medida que la corriente pasa a través de las paredes celulares y a través del interior de cada célula. Puede usarse corriente de alta frecuencia para caracterizar constituyentes nucleares y granulares y la composición química del interior de la célula.

El haz 322 incidente se desplaza a lo largo del eje de haz AX e irradia las células que pasan a través de la zona 332 de interrogación de células, dando como resultado la propagación de la luz dentro de un intervalo angular  $\alpha$  (por ejemplo dispersión, transmisión) que emana a partir de la zona 332. Los sistemas a modo de ejemplo están equipados con conjuntos de sensor que pueden detectar luz dentro de tres, cuatro, cinco o más intervalos angulares dentro del intervalo angular  $\alpha$ , incluyendo luz asociada con una medida de extinción o pérdida de luz axial tal como se describe en otra parte en el presente documento. Tal como se muestra en este caso, la propagación 340 de la luz puede detectarse mediante un conjunto 350 de detección de luz, que tiene opcionalmente una unidad 350A de detector de dispersión de la luz y una unidad 350B de detector de dispersión y transmisión de la luz. En algunos casos, la unidad 350A de detector de dispersión de la luz incluye una región fotoactiva o zona de sensor para detectar y medir dispersión de la luz a ángulo medio superior (UMALS), por ejemplo luz que se dispersa o se propaga de otro modo a ángulos con respecto a un eje de haz de luz dentro de un intervalo de desde aproximadamente 20 hasta aproximadamente 42 grados. En algunos casos, UMALS corresponde a luz propagada dentro de un intervalo angular de desde entre aproximadamente 20 y aproximadamente 43 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación. La unidad 350A de detector de dispersión de la luz también puede incluir una región fotoactiva o zona de sensor para detectar y medir dispersión de la luz a ángulo medio inferior (LMALS), por ejemplo luz que se dispersa o se propaga de otro modo a ángulos con respecto a un eje de haz de luz dentro de un intervalo de desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 20 grados. En algunos casos, LMALS corresponde a luz propagada dentro de un intervalo angular de desde entre aproximadamente 9 y aproximadamente 19 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación.

Una combinación de UMALS y LMALS se define como dispersión de la luz a ángulo medio (MALS), que es dispersión o propagación de la luz a ángulos de entre aproximadamente 9 grados y aproximadamente 43 grados con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación.

Tal como se muestra en la figura 3, la unidad 350A de detector de dispersión de la luz puede incluir una abertura 351 que permite que dispersión 340 o propagación de la luz a ángulo bajo pase más allá de la unidad 350A de detector de dispersión de la luz y de ese modo alcance, y se detecte mediante, la unidad 350B de detector de dispersión y transmisión de la luz. Según algunas realizaciones, la unidad 350B de detector de dispersión y transmisión de la luz puede incluir una región fotoactiva o zona de sensor para detectar y medir dispersión de la luz a ángulo inferior (LALS), por ejemplo luz que se dispersa o se propaga a ángulos con respecto a un eje de haz de luz de irradiación de aproximadamente 5,1 grados. En algunos casos, LALS corresponde a luz propagada a un ángulo de menos de aproximadamente 9 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación. En algunos casos, LALS corresponde a luz propagada a un ángulo de menos de aproximadamente 10 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación. En algunos casos, LALS corresponde a luz propagada a un ángulo de aproximadamente 1,9 grados  $\pm$  0,5 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación. En algunos casos, LALS corresponde a luz propagada a un ángulo de aproximadamente 3,0 grados  $\pm$

0,5 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación. En algunos casos, LALS corresponde a luz propagada a un ángulo de aproximadamente 3,7 grados  $\pm$  0,5 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación. En algunos casos, LALS corresponde a luz propagada a un ángulo de aproximadamente 5,1 grados  $\pm$  0,5 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación. En algunos casos, LALS corresponde a luz propagada a un ángulo de aproximadamente 7,0 grados  $\pm$  0,5 grados, con respecto al eje de haz incidente que irradia células que fluyen a través de la zona de interrogación.

Según algunas realizaciones, la unidad 350B de detector de dispersión y transmisión de la luz puede incluir una región fotoactiva o zona de sensor para detectar y medir luz transmitida axialmente a través de las células, o propagada a partir de las células irradiadas, a un ángulo de 0 grados con respecto al eje de haz incidente de luz. En algunos casos, la región fotoactiva o zona de sensor puede detectar y medir luz propagada axialmente a partir de células a ángulos de menos de aproximadamente 1 grado con respecto al eje de haz incidente de luz. En algunos casos, la región fotoactiva o zona de sensor puede detectar y medir luz propagada axialmente a partir de células a ángulos de menos de aproximadamente 0,5 grados con respecto al eje de haz incidente de luz menos. Tales medidas de luz transmitida o propagada axialmente corresponden a pérdida de luz axial (ALL o AL2). Tal como se indica en la patente estadounidense n.º 7.390.662, cuando la luz interacciona con una partícula, parte de la luz incidente cambia de dirección mediante el proceso de dispersión (es decir dispersión de la luz) y parte de la luz se absorbe por las partículas. Ambos de estos procesos retiran energía a partir del haz incidente. Cuando se observa a lo largo del eje incidente del haz, la pérdida de luz puede denominarse pérdida de luz axial o extinción directa. En el documento U.S. 7.390.662, de la columna 5, línea 58, a la columna 6, línea 4, se describen aspectos adicionales de técnicas de medición de pérdida de luz axial.

Como tal, el sistema 300 de análisis celular proporciona medios para obtener medidas de propagación de la luz, incluyendo dispersión de la luz y/o transmisión de la luz, para luz que emana a partir de las células irradiadas de la muestra biológica a cualquiera de una variedad de ángulos o dentro de cualquiera de una variedad de intervalos angulares, incluyendo ALL y múltiples ángulos de dispersión o propagación de la luz diferenciados. Por ejemplo, el conjunto 350 de detección de luz, incluyendo conjunto de circuitos y/o unidades de procesamiento apropiados, proporciona unos medios para detectar y medir UMALS, LMALS, LALS, MALS y ALL.

Cables u otros mecanismos de transmisión o conectividad pueden transmitir señales a partir del conjunto de electrodo (por ejemplo los electrodos 334, 336), la unidad 350A de detector de dispersión de la luz y/o la unidad 350B de detector de dispersión y transmisión de la luz al sistema 304 de análisis para su procesamiento. Por ejemplo, pueden proporcionarse o transmitirse parámetros medidos de impedancia de CC, conductividad de RF, transmisión de la luz y/o dispersión de la luz al sistema 304 de análisis para el procesamiento de datos. En algunos casos, el sistema 304 de análisis puede incluir características de procesamiento informático y/o uno o más módulos o componentes tales como los descritos en el presente documento con referencia al sistema representado en la figura 6, que pueden evaluar los parámetros medidos, identificar y enumerar constituyentes de muestra biológica y correlacionar un subconjunto de datos que caracterizan elementos de la muestra biológica con un estatus de plaquetas del individuo. Tal como se muestra en este caso, el sistema 300 de análisis celular puede generar y emitir un informe 306 que contiene el recuento de plaquetas predicho y/o un régimen de tratamiento recomendado para el individuo. En algunos casos, el exceso de muestra biológica a partir del módulo 310 de transductor puede dirigirse a un sistema 308 de residuos externo (o alternativamente interno). En algunos casos, un sistema 300 de análisis celular puede incluir una o más características de un módulo de transductor o instrumento de análisis de sangre tal como los descritos en las patentes estadounidenses n.ºs 5.125.737; 6.228.652; 8.094.299 y 8.189.187.

La figura 4 ilustra aspectos de un sistema de análisis celular automatizado para predecir o evaluar un recuento de plaquetas de un individuo, según realizaciones de la presente invención. En particular, el recuento de plaquetas puede predecirse basándose en una muestra biológica obtenida a partir de sangre del individuo. Tal como se muestra en este caso, un sistema de análisis o transductor 400 puede incluir un elemento 410 óptico que tiene una zona 412 de interrogación de células. El transductor también proporciona una trayectoria 420 de flujo, que suministra una corriente 422 hidrodinámicamente enfocada de una muestra biológica hacia la zona 412 de interrogación de células. Por ejemplo, a medida que se proyecta la corriente 422 de muestra hacia la zona 412 de interrogación de células, también puede entrar un volumen de fluido 424 de protección en el elemento 410 óptico a presión, para rodear de manera uniforme la corriente 422 de muestra y hacer que la corriente 422 de muestra fluya a través del centro de la zona 412 de interrogación de células, logrando por tanto un enfoque hidrodinámico de la corriente de muestra. De esta manera, células individuales de la muestra biológica, que pasan a través de la zona de interrogación de células una célula cada vez, pueden analizarse con precisión.

El sistema 400 o módulo de transductor también incluye un conjunto 430 de electrodo que mide la impedancia de corriente continua (CC) y la conductividad de radiofrecuencia (RF) de las células 10 de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona 412 de interrogación de células. El conjunto 430 de electrodo puede incluir un primer mecanismo 432 de electrodo y un segundo mecanismo 434 de electrodo. Tal como se comenta en otra parte en el presente documento, pueden usarse medidas de CC de baja frecuencia para analizar el volumen de cada célula individual que pasa a través de la zona de interrogación de células. De manera relacionada, pueden usarse medidas de corriente de RF de alta frecuencia para determinar la conductividad de células que pasan a

través de la zona de interrogación de células. Tales medidas de conductividad pueden proporcionar información referente al contenido celular interno de las células. Por ejemplo, puede usarse la corriente de RF de alta frecuencia para analizar constituyentes nucleares y granulares, así como la composición química del interior de la célula, de células individuales que pasan a través de la zona de interrogación de células.

5 El sistema 400 también incluye una fuente 440 de luz orientada para dirigir un haz 442 de luz a lo largo de un eje 444 de haz para irradiar las células 10 de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona 412 de interrogación de células. De manera relacionada, el sistema 400 incluye un conjunto 450 de detección de luz ópticamente acoplado con la zona de interrogación de células, para medir luz dispersada por, y transmitida a través de, las células irradiadas 10 de la muestra biológica. El conjunto 450 de detección de luz puede incluir una pluralidad de zonas de sensor de luz que detectan y miden luz que se propaga a partir de la zona 412 de interrogación de células. En algunos casos, el conjunto de detección de luz detecta luz propagada a partir de la zona de interrogación de células a diversos ángulos o intervalos angulares con respecto al eje de haz de irradiación. Por ejemplo, el conjunto 450 de detección de luz puede detectar y medir luz que se dispersa a diversos ángulos mediante las células, así como luz que se transmite axialmente mediante las células a lo largo del eje de haz. El conjunto 450 de detección de luz puede incluir una primera zona 452 de sensor que mide una primera luz 452s dispersada o propagada dentro de un primer intervalo de ángulos con respecto al eje 444 de haz de luz. El conjunto 450 de detección de luz también puede incluir una segunda zona 454 de sensor que mide una segunda luz 454s dispersada o propagada dentro de un segundo intervalo de ángulos con respecto al eje 444 de haz de luz. Tal como se muestra en este caso, el segundo intervalo de ángulos para la luz 454s dispersada o propagada es diferente del primer intervalo de ángulos para la luz 452s dispersada o propagada. Además, el conjunto 450 de detección de luz puede incluir una tercera zona 456 de sensor que mide una tercera luz 456s dispersada o propagada dentro de un tercer intervalo de ángulos con respecto al eje 444 de haz de luz. Tal como se muestra en este caso, el tercer intervalo de ángulos para la luz 456s dispersada o propagada es diferente tanto del primer intervalo de ángulos para la luz 452s dispersada o propagada como del segundo intervalo de ángulos para la luz 454s dispersada o propagada. El conjunto 450 de detección de luz también incluye una cuarta zona 458 de sensor que mide luz 458t axial transmitida a través de las células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona 412 de interrogación de células o propagada a partir de la zona de interrogación de células a lo largo del haz de eje. En algunos casos, cada una de las zonas 452, 454, 456 y 458 de sensor está dispuesta en un sensor independiente asociado con esa zona de sensor específica. En algunos casos, una o más de las zonas 452, 454, 456 y 458 de sensor están dispuestas en un sensor común del conjunto 450 de detección de luz. Por ejemplo, el conjunto de detección de luz puede incluir un primer sensor 451 que incluye la primera zona 452 de sensor y la segunda zona 454 de sensor. Por tanto, puede usarse un único sensor para detectar o medir dos o más tipos de dispersión o propagación de la luz (por ejemplo a ángulo bajo, ángulo medio o ángulo alto).

35 Los sistemas de análisis celular automatizados pueden incluir cualquiera de una variedad de elementos ópticos o características de transductor. Por ejemplo, tal como se representa en la figura 4A, un elemento 410a óptico de un transductor de sistema de análisis celular puede tener una forma de prisma cuadrado, con cuatro lados rectangulares, ópticamente planos, y paredes 436a de extremo opuestas. En algunos casos, las anchuras respectivas W de cada lado 450a son iguales, midiendo cada una aproximadamente 4,2 mm, por ejemplo. En algunos casos, las longitudes respectivas L de cada lado 450a son iguales, midiendo cada una aproximadamente 6,3 mm, por ejemplo. En algunos casos, la totalidad o parte del elemento 410a óptico puede fabricarse a partir de sílice fundida o cuarzo. Un paso 432a de flujo formado a través de una región central del elemento 410a óptico puede estar configurado de manera concéntrica con respecto a un eje longitudinal A que pasa a través del centro del elemento 410a y paralelo a una dirección de flujo de muestra tal como se indica mediante la flecha SF. El paso 432a de flujo incluye una zona Z de interrogación de células y un par de orificios 454a perforados en sección decreciente opuestos que tienen aberturas en las inmediaciones de sus bases respectivas que están en comunicación de fluido con la zona de interrogación de células. En algunos casos, la sección transversal de la zona Z de interrogación de células tiene forma cuadrada, midiendo nominalmente la anchura W' de cada lado 50 micrómetros  $\pm$  10 micrómetros. En algunos casos, la longitud L' de la zona Z de interrogación de células, medida a lo largo del eje A, es de aproximadamente 1,2 a 1,4 veces la anchura W' de la zona de interrogación. Por ejemplo, la longitud L' puede ser de aproximadamente 65 micrómetros  $\pm$  10 micrómetros. Tal como se indica en otra parte en el presente documento, pueden realizarse mediciones de CC y RF con células que pasan a través de la zona de interrogación de células. En algunos casos, el diámetro máximo de los orificios 454a perforados en sección decreciente, medido en las paredes 436a de extremo, es aproximadamente de 1,2 mm. Una estructura 410a óptica del tipo descrito puede realizarse a partir de un vástago cuadrado de cuarzo que contiene una abertura capilar de 50 x 50 micrómetros, mecanizada para definir los orificios 454a perforados de comunicación, por ejemplo. Un láser u otra fuente de irradiación puede producir un haz B que se dirige a través de, o se enfoca en, la zona de interrogación de células. Por ejemplo, el haz puede enfocarse en una parte central de forma elíptica ubicada dentro de la zona Z de interrogación en una ubicación a través de la cual se hace que pasen las células. Un sistema de análisis celular puede incluir un conjunto de detección de luz que está configurado para detectar luz que emana a partir del elemento 410a óptico, por ejemplo luz P que se propaga a partir de la zona Z de interrogación de células que contiene células iluminadas o irradiadas que fluyen a través de la misma. Tal como se representa en este caso, la luz P puede propagarse o emanar a partir de la zona Z de interrogación de células dentro de un intervalo angular  $\alpha$ , y por tanto puede medirse o detectarse a posiciones angulares o intervalos angulares seleccionados con respecto al eje de haz AX. De manera relacionada, un conjunto de detección de luz puede detectar luz dispersada o axialmente transmitida en un plano directo dentro

de diversos intervalos angulares con respecto a un eje AX del haz B. Tal como se comenta en otra parte en el presente documento, pueden obtenerse una o más medidas de propagación de la luz para células individuales que pasan a través de la zona de interrogación de células de una en una. En algunos casos, un sistema de análisis celular puede incluir una o más características de un transductor o zona de interrogación de células tal como las descritas en las patentes estadounidenses n.<sup>os</sup> 5.125.737; 6.228.652; 8.094.299 y 8.189.187.

La figura 5 representa aspectos de un método 500 a modo de ejemplo para predecir o evaluar un recuento de plaquetas de un individuo. El método 500 incluye introducir una muestra de sangre en un sistema de análisis de sangre, tal como se indica mediante la etapa 510. Tal como se muestra en la etapa 520, el método también puede incluir preparar la muestra de sangre dividiendo la muestra en alícuotas y mezclando las muestras de alícuota con reactivos apropiados. En la etapa 530, pueden hacerse pasar las muestras a través de una celda de flujo en un sistema de transductor de tal manera que constituyentes de muestra (por ejemplo células sanguíneas) pasan a través de una zona de interrogación de células de uno en uno. Los constituyentes pueden irradiarse mediante una fuente de luz, tal como un láser. En la etapa 540, puede medirse cualquier combinación de conductividad 541 de RF, impedancia 542 de CC, primera propagación 543 de la luz angular (por ejemplo LALS), segunda propagación 544 de la luz angular (por ejemplo AL2), tercera propagación 545 de la luz angular (por ejemplo UMAL) y/o cuarta propagación 546 de la luz angular (por ejemplo LMALS). Tal como se representa mediante la etapa 547, las medidas de propagación de la luz angular tercera y cuarta pueden usarse para determinar una quinta medida de propagación de la luz angular (por ejemplo MALS). Alternativamente, puede medirse MALS directamente. Tal como se comenta en otra parte en el presente documento, ciertas medidas o combinaciones de medidas pueden procesarse, tal como se indica mediante la etapa 550, para proporcionar una predicción de recuento de plaquetas. Únicamente a modo de descripción, los métodos también pueden incluir determinar un régimen de tratamiento basándose en el recuento de plaquetas predicho.

Un sistema de análisis celular puede estar configurado para correlacionar un subconjunto de medidas de impedancia de CC, conductividad de RF, luz angular (por ejemplo primera luz dispersada, segunda luz dispersada) y las medidas de luz axial a partir de las células de la muestra biológica con un estatus de plaquetas de un individuo. Tal como se comenta en otra parte en el presente documento, en algunos casos al menos una parte de la correlación puede realizarse usando uno o más módulos de software que pueden ejecutarse por uno o más procesadores, uno o más módulos de hardware o cualquier combinación de los mismos. Los procesadores u otros sistemas de módulos o informáticos pueden estar configurados para recibir como entrada valores para las diversas medidas o parámetros y emitir automáticamente el recuento de plaquetas predicho del individuo. En algunos casos, uno o más de los módulos de software, procesadores y/o módulos de hardware pueden estar incluidos como componente de un sistema de hematología que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología. En algunos casos, uno o más de los módulos de software, procesadores y/o módulos de hardware pueden estar incluidos como componente de un ordenador independiente que está en comunicación o conectividad operativa con un sistema de hematología que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología. En algunos casos, al menos una parte de la correlación puede realizarse mediante uno o más de los módulos de software, procesadores y/o módulos de hardware que reciben datos a partir de un sistema de hematología que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología de manera remota a través de Internet o cualquier otra red de comunicación cableada y/o inalámbrica. De manera relacionada, cada uno de los dispositivos o módulos según realizaciones de la presente invención puede incluir uno o más módulos de software en un medio legible por ordenador que se procesa mediante un procesador o módulos de hardware o cualquier combinación de los mismos.

La figura 6 es un diagrama de bloques simplificado de un sistema de módulos a modo de ejemplo que ilustra de manera amplia cómo pueden implementarse elementos de sistema individuales para un sistema 600 de módulos de una manera independiente o más integrada. El sistema 600 de módulos puede formar parte de, o estar en conectividad con, un sistema de análisis celular para predecir un recuento de plaquetas de un individuo según realizaciones de la presente invención. El sistema 600 de módulos es bien adecuado para producir datos o recibir entrada relacionada con un análisis de plaquetas. En algunos casos, el sistema 600 de módulos incluye elementos de hardware que están eléctricamente acoplados mediante un subsistema 602 de bus, incluyendo uno o más procesadores 604, uno o más dispositivos 606 de entrada tales como dispositivos de entrada de interfaz de usuario, y/o uno o más dispositivos 608 de salida tales como dispositivos de salida de interfaz de usuario. En algunos casos, el sistema 600 incluye una interfaz 610 de red y/o una interfaz 640 de sistema de diagnóstico que puede recibir señales a partir de, y/o transmitir señales a, un sistema 642 de diagnóstico. En algunos casos, el sistema 600 incluye elementos de software, por ejemplo mostrados en este caso como que están actualmente ubicados dentro de una memoria 612 de trabajo de una memoria 614, un sistema 616 operativo y/u otro código 618, tal como un programa configurado para implementar uno o más aspectos de las técnicas dadas a conocer en el presente documento.

En algunas realizaciones, el sistema 600 de módulos puede incluir un subsistema 620 de almacenamiento que puede almacenar los constructos de programación y datos básicos que proporcionan la funcionalidad de las diversas técnicas dadas a conocer en el presente documento. Por ejemplo, pueden almacenarse módulos de software que implementan la funcionalidad de aspectos de método, tal como se describe en el presente documento, en un

subsistema 620 de almacenamiento. Estos módulos de software pueden ejecutarse por el uno o más procesadores 604. En un entorno distribuido, los módulos de software pueden almacenarse en una pluralidad de sistemas informáticos y ejecutarse por procesadores de la pluralidad de sistemas informáticos. El subsistema 620 de almacenamiento puede incluir un subsistema 622 de memoria y un subsistema 628 de almacenamiento de archivos. El subsistema 622 de memoria puede incluir varias memorias incluyendo una memoria 626 de acceso aleatorio (RAM) principal para el almacenamiento de instrucciones y datos durante la ejecución del programa y una memoria 624 de sólo lectura (ROM) en la que se almacenan instrucciones fijas. El subsistema 628 de almacenamiento de archivos puede proporcionar almacenamiento persistente (no volátil) para archivos de programa y datos, y puede incluir medios de almacenamiento tangibles que pueden implementar opcionalmente datos de paciente, tratamiento, evaluación u otros datos. El subsistema 628 de almacenamiento de archivos puede incluir una unidad de disco duro, una unidad de disquete junto con medios extraíbles asociados, una unidad de memoria de sólo lectura digital compacta (CD-ROM), una unidad óptica, DVD, CD-R, CD RW, memoria extraíble en estado sólido, otros discos o cartuchos de medios extraíbles, y similares. Una o más de las unidades pueden estar ubicadas en ubicaciones remotas en otros ordenadores conectados en otros sitios acoplados al sistema 600 de módulos. Tal como se define en las reivindicaciones, los sistemas de la invención incluyen un medio de almacenamiento legible por ordenador u otro medio de almacenamiento tangible que almacena una o más secuencias de instrucciones que, cuando se ejecutan por uno o más procesadores, hacen que el uno o más procesadores determinen el recuento de plaquetas tal como se define en las reivindicaciones y se da a conocer en el presente documento. Uno o más módulos que implementan la funcionalidad de las técnicas dadas a conocer en el presente documento pueden almacenarse mediante el subsistema 628 de almacenamiento de archivos. En algunas realizaciones, el software o código proporcionará protocolo para permitir que el sistema 600 de módulos se comuniquen con la red 630 de comunicación. Opcionalmente, tales comunicaciones pueden incluir comunicaciones de conexión por llamada o Internet.

Se aprecia que el sistema 600 puede estar configurado para llevar a cabo diversos aspectos de métodos de la presente invención. Por ejemplo, módulo 604 o componente de procesador puede ser un módulo de control de microprocesador configurado para recibir señales de parámetros celulares a partir de un módulo 632 o dispositivo de entrada de sensor, a partir de un módulo 606 o dispositivo de entrada de interfaz de usuario y/o a partir de un sistema 642 de diagnóstico, opcionalmente a través de una interfaz 640 de sistema de diagnóstico y/o una interfaz 610 de red y una red 630 de comunicación. En algunos casos, el/los dispositivo(s) de entrada de sensor puede(n) incluir o formar parte de un sistema de análisis celular que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología. En algunos casos, el/los dispositivo(s) 606 de entrada de interfaz de usuario y/o la interfaz 610 de red pueden estar configurados para recibir señales de parámetros celulares generadas por un sistema de análisis celular que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología. En algunos casos, el sistema 642 de diagnóstico puede incluir o formar parte de un sistema de análisis celular que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología.

El módulo 604 o componente de procesador también puede estar configurado para transmitir señales de parámetros celulares, opcionalmente procesadas según cualquiera de las técnicas dadas a conocer en el presente documento, al módulo 636 o dispositivo de salida de sensor, al módulo 608 o dispositivo de salida de interfaz de usuario, al módulo 610 o dispositivo de interfaz de red, a la interfaz 640 de sistema de diagnóstico o cualquier combinación de los mismos. Cada uno de los dispositivos o módulos según realizaciones de la presente invención puede incluir uno o más módulos de software en un medio legible por ordenador que se procesa mediante un procesador, o módulos de hardware, o cualquier combinación de los mismos. Puede usarse cualquiera de una variedad de plataformas habitualmente usadas, tales como Windows, Macintosh y Unix, junto con cualquiera de una variedad de lenguajes de programación habitualmente usados, para implementar realizaciones de la presente invención.

Los dispositivos 606 de entrada de interfaz de usuario pueden incluir, por ejemplo, un panel táctil, un teclado, dispositivos de puntero tales como un ratón, una bola de seguimiento, una tableta gráfica, un escáner, una palanca de control, una pantalla táctil incorporada en un elemento de presentación, dispositivos de entrada de audio tales como sistemas de reconocimiento de voz, micrófonos y otros tipos de dispositivos de entrada. Los dispositivos 606 de entrada de usuario también pueden descargar un código ejecutable por ordenador a partir de unos medios de almacenamiento tangibles o a partir de la red 630 de comunicación, implementando el código cualquiera de los métodos o aspectos de los mismos dados a conocer en el presente documento. Se apreciará que puede actualizarse el software del terminal de vez en cuando y descargarse en el terminal según sea apropiado. En general, se pretende que el uso del término "dispositivo de entrada" incluya una variedad de dispositivos y maneras convencionales y patentados de introducir información en el sistema 600 de módulos.

Los dispositivos 606 de salida de interfaz de usuario pueden incluir, por ejemplo, un subsistema de presentación, una impresora, un fax o presentaciones no visuales tales como dispositivos de salida de audio. El subsistema de presentación puede ser un tubo de rayos catódicos (CRT), un dispositivo de panel plano tal como una pantalla de cristal líquido (LCD), un dispositivo de proyección o similares. El subsistema de presentación también puede proporcionar una presentación no visual tal como mediante dispositivos de salida de audio. En general, se pretende que el uso del término "dispositivo de salida" incluya una variedad de dispositivos y maneras convencionales y patentados para emitir información a partir del sistema 600 de módulos a un usuario.

El subsistema 602 de bus proporciona un mecanismo para dejar que los diversos componentes y subsistemas del sistema 600 de módulos se comuniquen entre sí según se pretenda o se desee. No se necesita que los diversos subsistemas y componentes del sistema 600 de módulos estén en la misma ubicación física sino que pueden estar distribuidos en diversas ubicaciones dentro de una red distribuida. Aunque el subsistema 602 de bus se muestra esquemáticamente como un único bus, realizaciones alternativas de subsistema de bus pueden usar múltiples buses.

La interfaz 610 de red puede proporcionar una interfaz con una red 630 externa u otros dispositivos. La red 630 de comunicación externa puede estar configurada para realizar comunicaciones según se necesite o se desee con otras partes. Por tanto, puede recibir un paquete electrónico a partir del sistema 600 de módulos y transmitir cualquier información según se necesite o se desee de vuelta al sistema 600 de módulos. Tal como se representa en este caso, la red 630 de comunicación y/o la interfaz 642 de sistema de diagnóstico pueden transmitir información a, o recibir información a partir de, un sistema 642 de diagnóstico que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología.

Además de proporcionar tales enlaces de comunicaciones de infraestructura con el sistema, el sistema 630 de red de comunicaciones también puede proporcionar una conexión con otras redes tales como Internet y puede comprender una conexión cableada, inalámbrica, por módem y/u otro tipo de conexión de interconexión.

Resultará evidente para el experto en la técnica que pueden usarse variaciones sustanciales según requisitos específicos. Por ejemplo, también puede usarse hardware personalizado y/o pueden implementarse elementos particulares en hardware, software (incluyendo software portátil, tal como applets) o ambos. Además, puede emplearse conexión con otros dispositivos de cálculo tales como dispositivos de entrada/salida de red. El propio sistema 600 de terminal de módulos puede ser de diversos tipos incluyendo un terminal informático, un ordenador personal, un ordenador portátil, una estación de trabajo, un ordenador en red o cualquier otro sistema de procesamiento de datos. Debido a la naturaleza en constante cambio de los ordenadores y las redes, se pretende que la descripción del sistema 600 de módulos representado en la figura 6 sólo sea un ejemplo específico con fines de ilustrar una o más realizaciones de la presente invención. Son posibles muchas otras configuraciones del sistema 600 de módulos que tienen más o menos componentes que el sistema de módulos representado en la figura 6. Cualquiera de los módulos o componentes del sistema 600 de módulos, o cualquier combinación de tales módulos o componentes, puede acoplarse con, o integrarse en, o estar de otro modo configurado para estar en conectividad con, cualquiera de las realizaciones de sistema de análisis celular dadas a conocer en el presente documento. De manera relacionada, cualquiera de los componentes de hardware y software comentados anteriormente puede estar integrado con, o configurado para interconectarse con, otros sistemas de evaluación o tratamiento médicos usados en otras ubicaciones.

En algunas realizaciones, el sistema 600 de módulos puede estar configurado para recibir uno o más parámetros de análisis celular de un paciente en un módulo de entrada. Pueden transmitirse datos de parámetros de análisis celular a un módulo de evaluación en el que se predice o determina un estatus de plaquetas. El recuento de plaquetas predicho puede emitirse a un usuario del sistema a través de un módulo de salida. Únicamente a modo de ejemplo, el sistema 600 de módulos puede determinar un protocolo de tratamiento o inducción inicial para el paciente, o un protocolo de tratamiento ajustado, basándose en uno o más parámetros de análisis celular y/o el recuento de plaquetas predicho, por ejemplo usando un módulo de tratamiento. El tratamiento puede emitirse a un usuario del sistema mediante un módulo de salida. Opcionalmente, ciertos aspectos del tratamiento pueden determinarse mediante un dispositivo de salida y transmitirse a un sistema de tratamiento o un dispositivo secundario de un sistema de tratamiento. Cualquiera de una variedad de datos relacionados con el paciente puede introducirse en el sistema de módulos, incluyendo edad, peso, sexo, historia de tratamiento, historia clínica y similares. Pueden determinarse parámetros de regímenes de tratamiento o evaluaciones de diagnóstico basándose en tales datos.

De manera relacionada, en algunos casos un sistema incluye un procesador configurado para recibir datos de VCS como entrada. Un procesador también puede estar configurado para recibir datos de CBC como entrada. Opcionalmente, puede incorporarse un procesador, medio de almacenamiento o ambos, dentro de una máquina de hematología o análisis celular. En algunos casos, la máquina de hematología puede generar datos de VCS, datos de CBC u otra información para su introducción en el procesador. En algunos casos, puede incorporarse un procesador, un medio de almacenamiento o ambos, dentro de un ordenador, y el ordenador puede estar en comunicación con una máquina de hematología. En algunos casos, puede incorporarse un procesador, un medio de almacenamiento o ambos, dentro de un ordenador, y el ordenador puede estar en comunicación remota con una máquina de hematología a través de una red.

Datos de volumen, conductividad y dispersión (VCS)

Además de datos de CBC, que pueden obtenerse a partir de un módulo de CBC, pueden obtenerse datos de VCS a partir de un módulo de VCS. Los parámetros de VCS a modo de ejemplo incluyen los siguientes:

1. Conductividad de células (C) [corriente de alta frecuencia]

2. Volumen celular (V) [corriente de baja frecuencia]

3. Pérdida de luz axial o luz absorbida (AL2 o ALL)

5 4. Dispersión de la luz a ángulo bajo (LALS)

5. Dispersión de la luz a ángulo medio superior (UMALS)

10 6. Dispersión de la luz a ángulo medio inferior (LMALS)

7. Dispersión de la luz a ángulo medio (MALS) [UMALS + LMALS]

15 De esta manera, pueden calcularse diversos parámetros (por ejemplo volumen, conductividad y ángulos de dispersión o propagación de la luz) por separado para células sanguíneas tales como glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas. Estos datos pueden obtenerse basándose en una muestra biológica de un individuo. Lo que es más, pueden visualizarse datos de CBC y VCS en la pantalla de un instrumento, tal como la representada en la figura 7, así como exportarse automáticamente como archivo de Excel. Por tanto, pueden analizarse células sanguíneas (por ejemplo RBC, plaquetas y WBC) y representarse gráficamente de manera individual en histogramas tridimensionales, definiéndose la posición de cada célula en el histograma mediante ciertos parámetros tal como se describe en el presente documento.

25 Pueden separarse subpoblaciones de células o partículas en diferentes grupos en diferentes ubicaciones en los histogramas. Por ejemplo, pueden agruparse agregaciones plaquetarias y glóbulos blancos en diferentes regiones de un histograma, formando por tanto poblaciones celulares. La figura 7 representa una captura de pantalla a modo de ejemplo de aspectos de un análisis de recuento. Tal como se ilustra en este caso, los acontecimientos de agregación plaquetaria están rodeados por un círculo en el histograma. Generalmente, tales histogramas pueden obtenerse a partir de un canal de glóbulos rojos nucleados (NRBC) (o un canal diferencial de WBC o un canal de reticulocitos) tal como se comenta en otra parte en el presente documento.

30 Tales valores de VCS pueden corresponder a la posición de la población en el histograma, y a la morfología de las células sanguíneas bajo el microscopio. Tal como se representa en las figuras 7D a 7F, ciertos módulos de canal pueden proporcionar medidas para diversas partículas o componentes sanguíneos, tales como agregaciones plaquetarias, células sanguíneas o residuo celular que pueden estar presentes.

35 Pueden usarse parámetros de VCS para analizar acontecimientos celulares de una manera cuantitativa, objetiva y automatizada, libre de la subjetividad de la interpretación humana, que también requiere mucho tiempo, es cara y tiene una reproducibilidad limitada. En determinadas realizaciones, pueden usarse parámetros de VCS en la estimación de un recuento de plaquetas en un individuo basándose en una muestra biológica obtenida a partir del individuo. En el presente documento también se describe, únicamente a modo de ejemplo, el diagnóstico de diversas condiciones médicas que alteran los recuentos de plaquetas. Se entiende que, cuando se hace referencia a perfiles de datos de volumen, conductividad y dispersión o parámetros de VCS, tales caracterizaciones pueden incluir un subconjunto de las características de datos de VCS individuales. Por ejemplo, los datos de parámetros de VCS pueden incluir una combinación de medidas de volumen y conductividad, una combinación de medidas de volumen y dispersión o una combinación de medidas de conductividad y dispersión. De manera similar, los datos de parámetros de VCS pueden incluir sólo una medida de volumen, sólo una medida de conductividad o sólo una medida de dispersión. En algunos casos, puede considerarse que los datos de parámetros de VCS incluyen un conjunto o subconjunto de datos de propagación de la luz y de corriente. Por ejemplo, las medidas de propagación de la luz pueden incluir una primera luz propagada a un primer ángulo, una segunda luz propagada a un segundo ángulo diferente del primer ángulo, una luz propagada axial o cualquier combinación de las mismas. De manera relacionada, las medidas de corriente pueden incluir una corriente de baja frecuencia (por ejemplo, impedancia de CC correspondiente al volumen), una corriente de alta frecuencia (por ejemplo conductividad de RF correspondiente a la densidad celular interna) o una combinación de los mismos. En este sentido, los perfiles de datos de volumen, conductividad y dispersión o datos de parámetros de VCS pueden denominarse perfiles de datos o parámetros de propagación de la luz actual.

55 Tal como se comenta adicionalmente en el presente documento, se ha descubierto que ciertos valores de parámetros de VCS son altamente útiles para evaluar un recuento de plaquetas en un individuo. Por consiguiente, estos parámetros pueden implementarse en sistemas y métodos para la estimación del recuento de plaquetas en un individuo.

60 Recuento de plaquetas corregido (método I)

65 La figura 7A ilustra aspectos de un método 700a a modo de ejemplo para determinar un recuento de plaquetas corregido, según realizaciones de la presente invención. Tal como se muestra en este caso, el método puede incluir determinar u obtener un parámetro de volumen de agregación plaquetaria, tal como se representa en la etapa 710a, determinar u obtener un parámetro de volumen de plaqueta individual, tal como se representa en la etapa 720a, y

determinar u obtener un parámetro de plaquetas por agregación, tal como se representa en la etapa 730a. El parámetro de plaquetas por agregación puede basarse en el parámetro de volumen de agregación plaquetaria y el parámetro de volumen de plaqueta individual.

5 Además, el método puede incluir determinar u obtener un parámetro de razón de agregación plaquetaria con respecto a WBC, tal como se representa en la etapa 740a, determinar u obtener un parámetro de concentración de WBC, tal como se representa en la etapa 750a, y determinar u obtener el número de plaquetas contenidas en agregaciones (por ejemplo el recuento de plaquetas perdidas), tal como se representa en la etapa 760a. La estimación del número de plaquetas contenidas en agregaciones puede basarse en el parámetro de agregación plaquetaria con respecto a WBC, el parámetro de plaquetas por agregación y el parámetro de concentración de WBC.

15 Lo que es más, el método puede incluir determinar u obtener el recuento de plaquetas observadas, tal como se representa en la etapa 770a, y determinar o estimar el recuento de plaquetas corregido, tal como se representa en la etapa 780a. El cálculo del recuento de plaquetas corregido puede basarse en el recuento de plaquetas observadas y el recuento de plaquetas perdidas. Por ejemplo, el recuento de plaquetas estimado corregido puede basarse en la suma de los acontecimientos de plaquetas observados y el número estimado de plaquetas contenidas en agregaciones.

20 Determinación del parámetro de volumen de agregación plaquetaria

La figura 7B representa aspectos de una técnica para determinar un parámetro de volumen de agregación plaquetaria, según realizaciones de la presente invención. Tal como se muestra en este caso, el método incluye determinar una relación de canal-volumen analizando perlas de látex de volumen conocido usando un módulo de NRBC, tal como se representa en la etapa 710b. Normalmente, en un módulo de NRBC, la corriente continua (CC) es directamente proporcional al tamaño de partícula. Por tanto, pulsos de CC más grandes corresponden a tamaños de partícula más grandes. De esta manera, es posible obtener una referencia o patrón que correlaciona valores de canal de NRBC con valores de volumen de partícula.

30 Además, el método incluye procesar una muestra que contiene agregaciones plaquetarias usando un módulo de NRBC, tal como se representa en la etapa 720b. Por ejemplo, puede calcularse el canal medio a partir de un histograma en 1-D de la población de agregación plaquetaria.

35 Los datos emitidos por el módulo de NRBC para las agregaciones plaquetarias pueden correlacionarse con la referencia de tamaño de partícula para obtener un parámetro de volumen de agregación plaquetaria, tal como un volumen medio de la población de agregación plaquetaria. Por ejemplo, puede usarse una relación de canal-volumen (por ejemplo, a partir de la etapa 710b) y un canal medio (por ejemplo, a partir de la etapa 720b) para determinar un volumen medio (por ejemplo en femtolitros) de la población de agregación plaquetaria, V (por ejemplo, etapa 730b). En algunos casos, las agregaciones plaquetarias presentes en la muestra presentan una distribución de población, de tal manera que diferentes agregaciones incluyen diferentes números de plaquetas. Por ejemplo, algunas agregaciones de la población pueden incluir 5 plaquetas, algunas agregaciones pueden incluir 10 plaquetas, algunas agregaciones pueden incluir 20 plaquetas, y así sucesivamente.

45 Un enfoque a modo de ejemplo para determinar un parámetro de volumen de agregación plaquetaria se representa como etapa 710a de la figura 7A.

Determinación del parámetro de volumen de plaqueta individual

50 La figura 7C representa aspectos de una técnica para determinar un parámetro de volumen de plaqueta individual, según realizaciones de la presente invención. Tal como se muestra en este caso, puede obtenerse un histograma 700c de población de plaquetas a partir de un módulo de CBC. La curva ilustra una distribución de volumen de plaqueta individual, en femtolitros. El volumen de plaqueta medio o promedio para esta distribución puede denominarse MPV. El cálculo de la media puede implicar, para cada canal, multiplicar el número de acontecimientos en el canal por el volumen que corresponde al canal. Pueden sumarse los resultados a lo largo de todos los canales y después dividirse entre el número total de acontecimientos observados para obtener el volumen promedio (MPV) para cada acontecimiento.

60 Un enfoque a modo de ejemplo para determinar un parámetro de volumen de plaqueta individual se representa como etapa 720a de la figura 7A.

Determinación del parámetro de plaquetas por agregación

65 Es posible obtener el número promedio de plaquetas contenidas en cada agregación plaquetaria de una muestra, dividiendo un parámetro de volumen de agregación plaquetaria (por ejemplo V) entre un parámetro de volumen de plaqueta individual (por ejemplo MPV). Una medida de este tipo puede indicar el número de plaquetas contenidas en una agregación plaquetaria, en promedio. Un método a modo de ejemplo para estimar un parámetro de plaquetas

por agregación puede basarse en la siguiente ecuación:  $\alpha = V/MPV$ .

Por tanto, puede usarse un parámetro de volumen de agregación plaquetaria y un parámetro de volumen de plaqueta individual para obtener el número promedio de plaquetas contenidas en cada agregación plaquetaria. De manera relacionada, el número promedio de plaquetas contenidas en cada agregación plaquetaria puede calcularse dividiendo el volumen medio de la población de agregación plaquetaria (V) entre un volumen de plaqueta medio (MPV). De esta manera, realizaciones de la presente invención abarcan técnicas para usar información a partir de módulos de NRBC y CBC para estimar el número de plaquetas en una agregación individual, por ejemplo calculando en promedio el número de plaquetas por agregación.

Un enfoque a modo de ejemplo para determinar un parámetro de plaquetas por agregación se representa como etapa 730a de la figura 7A.

Determinación del parámetro de razón de agregación plaquetaria con respecto a glóbulos blancos

Pueden delinearse o segmentarse acontecimientos de agregación plaquetaria a partir de otros acontecimientos (por ejemplo NRBC, WBC, plaquetas y diversas formas de residuos) implementando ciertas técnicas de análisis en un módulo de NRBC, tal como el módulo de NRBC de un analizador de hematología. Por ejemplo, puede observarse la ausencia o presencia de agregaciones plaquetarias en una vista de representación gráfica de RLALS frente a AL2 a partir de un módulo de NRBC tal como se representa mediante la figura 7D (panel derecho, poca o ninguna agregación plaquetaria) y la figura 7E (panel derecho, agregación plaquetaria significativa). Los paneles izquierdos de las figuras 7D y 7E proporcionan histogramas de distribución de volumen de módulo de CBC para acontecimientos de glóbulos blancos (WBC) y plaquetas (PLT), correspondientes a los mostrados en los paneles derechos. Tal como se representa en la figura 7E, los histogramas de módulo de CBC, para parámetros tanto de WBC como de PLT, incluyen acontecimientos de agregación plaquetaria. Por ejemplo, el histograma de WBC incluye una combinación de las agregaciones plaquetarias y la población de WBC, y el histograma de PLT incluye una combinación de las agregaciones plaquetarias y una población de plaquetas individuales.

Puede observarse que los módulos de un sistema de análisis celular tal como un analizador de hematología pueden usarse para evaluar cualquiera de una variedad de partículas en una muestra biológica obtenida a partir de un individuo, incluyendo células, agregaciones de células, porciones de células y otras partículas contenidas en la muestra. Aunque la presente divulgación se refiere algunas veces al uso de un sistema de análisis celular (y módulos del mismo) tal como un analizador de hematología para analizar acontecimientos correspondientes a una célula individual, se entiende que la presente divulgación también abarca el uso de un sistema de análisis celular (y módulos del mismo) tal como un analizador de hematología para analizar acontecimientos correspondientes a cualquier tipo de partículas, o agregaciones de partículas (por ejemplo agregaciones plaquetarias) que puedan estar contenidas en una muestra biológica obtenida a partir de un individuo.

Tal como se ilustra en las figuras 7D y 7E, una medida de dispersión de la luz a ángulo bajo (LALS) puede transformarse usando una función ARCTAN, y representarse como parámetro de LALS rotada (RLALS). Puede proporcionarse RLALS mediante una función de  $f(CC, LALS)$ . En una realización, se proporciona un parámetro de RLALS mediante la ecuación:  $RLALS = (C) \text{ARCTAN}(CC/LALS)$ , donde (C) es una constante de proporcionalidad y (CC) es un valor de corriente CC.

Además de la vista de RLALS frente a AL2 de las figuras 7D y 7E, se ha descubierto que una representación gráfica de RUMALS frente a ELMALS presentada mediante un canal de NRBC tal como la representada en la figura 7F proporciona una segmentación fiable de los acontecimientos de agregaciones plaquetarias a partir de otros tipos de acontecimientos.

Tal como se ilustra en la figura 7F, una medida de dispersión de la luz a ángulo medio superior (UMALS) puede transformarse usando una función ARCTAN, y representarse como parámetro de UMALS rotada (RUMALS). Puede proporcionarse RUMALS mediante una función de  $f(CC, UMALS)$ . En una realización, se proporciona un parámetro de RUMALS mediante la ecuación:  $RUMALS = (C) \text{ARCTAN}(CC/UMALS)$ , donde (C) es un factor de ajuste a escala y (CC) es un valor de corriente de CC.

Por tanto, usando vistas de representación gráfica de NRBC tales como las mostradas en las figuras 7E y 7F, es posible visualizar de manera conveniente diversas poblaciones de partículas e identificar y segmentar acontecimientos de agregación plaquetaria con respecto a acontecimientos de glóbulos blancos.

El parámetro de ELMALS también puede denominarse parámetro de dispersión de la luz a ángulo medio inferior extendido, puede calcularse como  $LMALS/2$ .

Usando combinaciones de parámetros bidimensionales tal como se muestra en las figuras 7E y 7F, puede realizarse una segmentación usando un límite no lineal para separar e identificar las agregaciones plaquetarias a partir de otros tipos de acontecimientos en el módulo de NRBC. Puede aplicarse una tecnología de procesamiento de imágenes de transformación divisoria para dibujar el límite en el espacio bidimensional. Tales técnicas de

procesamiento de imágenes implican implementar ciertos protocolos de búsqueda de poblaciones celulares. Por ejemplo, la técnica puede incluir inundar digitalmente la representación gráfica de datos, acentuar ciertas poblaciones y exponer poblaciones que pueden no reconocerse de otro modo. Exponiendo subpoblaciones más pequeñas, este enfoque puede determinar dónde pertenece la subpoblación y cómo aplicar técnicas de regulación apropiadas. De esta manera, es posible identificar acontecimientos de agregación plaquetaria en un procedimiento de segmentación.

Las evaluaciones de hematología pueden implicar un análisis de múltiples parámetros simultáneo de miles de partículas por segundo suspendiendo células en una corriente de fluido y haciéndolas pasar por un aparato de detección electrónico. Los datos generados pueden representarse gráficamente en histogramas y dividirse en regiones. Las regiones son formas que se dibujan o posicionan alrededor de una población de interés en un histograma de uno o dos parámetros. Las formas de región a modo de ejemplo incluyen polígonos, círculos, elipses, formas irregulares o similares bidimensionales. Los acontecimientos individuales mostrados a modo de ejemplo en los datos corresponden a combinaciones únicas de parámetros y se acumulan en casos en los que están presentes múltiples apariciones de tales combinaciones. Según algunas realizaciones, los datos acumulados en histogramas pueden separarse o agruparse basándose en parámetros de VCS, en etapas conocidas como "regulación" que implican una o más regiones. También pueden usarse diversas técnicas manuales, automatizadas y otras de regulación, decisión de límites, colocación de regiones y segmentación de histogramas para identificar y/o segmentar datos de agregación plaquetaria tales como los mostrados en las figuras 7E y 7F, y se comentan técnicas a modo de ejemplo en la publicación de patente estadounidense n.º 2010/0111400 ("Non-Linear Histogram Segmentation for Particle Analysis"). Según algunas realizaciones, pueden realizarse diversas etapas de análisis de histograma basándose en módulo de NRBC y técnicas de procesamiento de canal usando un sistema tal como un analizador de hematología.

Por tanto, tal como se muestra en las figuras 7D a 7F, las realizaciones de la presente invención abarcan diversas técnicas para correlacionar datos de salida de canal de módulo de NRBC con la identificación de acontecimientos de agregación plaquetaria en una muestra biológica. De esta manera, es posible obtener una razón de agregación plaquetaria con respecto a WBC o separar de otro modo la población de agregación plaquetaria a partir de otros acontecimientos (por ejemplo WBC). Por ejemplo, esta técnica puede proporcionar una medida del número de acontecimientos de agregación plaquetaria por cada 100 acontecimientos de glóbulos blancos.

Un enfoque a modo de ejemplo para determinar un parámetro de agregación plaquetaria con respecto a WBC se representa como etapa 740a de la figura 7A.

Determinación de parámetro de glóbulos blancos

Según algunas realizaciones, puede obtenerse un parámetro de concentración de glóbulos blancos mediante un módulo de CBC. De esta manera, es posible evaluar el número de acontecimientos de glóbulos blancos correspondientes a un volumen unitario de muestra.

Un enfoque a modo de ejemplo para determinar un parámetro de concentración de WBC se representa como etapa 750a de la figura 7A.

Determinación del número de plaquetas perdidas debido a agregación

Una vez que se obtienen un parámetro de razón de agregación plaquetaria con respecto a WBC, un parámetro de agregación plaquetaria y un parámetro de concentración de WBC (por ejemplo, etapas 740a, 730a y 750a, respectivamente, de la figura 7A), es posible determinar o estimar el número de plaquetas contenidas en agregaciones, que se pierden durante el recuento de plaquetas.

Según algunas realizaciones, el recuento de plaquetas perdidas en agregaciones, o  $PLT_C$ , puede calcularse con la siguiente ecuación:  $PLT_C = \alpha * (E_C/E_W) * WBC$ , donde  $E_C$  y  $E_W$  son el número de acontecimientos de agregación plaquetaria y glóbulos blancos, respectivamente, en el módulo de NRBC. En este caso, WBC es la concentración de glóbulos blancos a partir del módulo de CBC.

Un enfoque a modo de ejemplo para determinar el número de plaquetas contenidas en agregaciones se representa como etapa 760a de la figura 7A.

Determinación del recuento de plaquetas observadas

Según algunas realizaciones, puede obtenerse un recuento de plaquetas observadas mediante un módulo de CBC. Sin embargo, tales recuentos de plaquetas de CBC pueden no incluir un recuento de plaquetas que se producen en agregaciones, produciendo por tanto un recuento de plaquetas artificialmente bajo. Dicho de otro modo, el recuento de plaquetas observadas puede referirse al número de plaquetas no agregadas en una muestra.

Un enfoque a modo de ejemplo para determinar un parámetro de recuento de plaquetas observadas se representa

como etapa 770a de la figura 7A.

Determinación del recuento de plaquetas corregido

5 Según algunas realizaciones, puede determinarse un recuento de plaquetas corregido combinando un parámetro de recuento de plaquetas observadas con un parámetro de recuento de plaquetas perdidas. Por ejemplo, el recuento de plaquetas corregido puede calcularse con la siguiente ecuación:  $PLT_{COR} = PLT_C + PLT$ , donde  $PLT$  es el recuento de plaquetas observadas a partir de un módulo de CBC.

10 Un enfoque a modo de ejemplo para determinar un recuento de plaquetas corregido parámetro se representa como etapa 780a de la figura 7A.

15 La figura 7G ilustra aspectos de un sistema de análisis de muestras biológicas, según realizaciones de la presente invención. Tal como se representa en este caso, las técnicas de análisis de plaquetas pueden incluir determinar parámetros de volumen de agregación plaquetaria y de razón de agregación plaquetaria con respecto a WBC usando la salida de canal de NRBC a partir de un módulo de VCS. Además, las técnicas pueden incluir determinar parámetros de recuento de plaquetas observadas, de volumen de plaqueta individual y de concentración de WBC usando un módulo de CBC. Lo que es más, las técnicas pueden incluir determinar parámetros de recuento de plaquetas perdidas y de recuento de plaquetas corregido usando diversas combinaciones de parámetros a partir de los módulos de NRBC y CBC.

20 Basándose en las técnicas de corrección de recuento de plaquetas comentadas anteriormente con referencia a las figuras 7A a 7G, puede observarse que realizaciones de la presente invención abarcan sistemas y métodos eficaces para enumerar y diferenciar plaquetas en una muestra de sangre usando un analizador de partículas. Tal como se define en las reivindicaciones, las técnicas implican estimar un recuento de plaquetas corregido estimando números de plaquetas contenidas en agregaciones plaquetarias, y después añadiendo este valor estimado al número de plaquetas real contado con el fin de obtener un recuento de plaquetas total (corregido). De esta manera, pueden tenerse en cuenta artefactos de agregación en mediciones de plaquetas que de lo contrario pueden perderse en sistemas automatizados (proporcionando de ese modo un recuento impreciso, o requiriendo mediciones manuales que requieren mucho tiempo) y ajustarse de manera apropiada el recuento de plaquetas. Por ejemplo, pueden detectarse plaquetas y agregaciones plaquetarias representando gráficamente la dispersión de la luz a ángulo bajo rotada frente a la excitación directa (por ejemplo la figura 7E) o representando gráficamente la dispersión de la luz a ángulo medio superior rotada frente a la dispersión de la luz a ángulo medio bajo (por ejemplo la figura 7F). La técnica para aproximar los números de plaquetas totales tal como se describió anteriormente implica determinar el volumen medio de agregaciones plaquetarias (por ejemplo, volumen medio global de la población de agregación plaquetaria), derivar un número de plaquetas estimado dividiendo el valor de volumen de agregación entre el volumen medio de una plaqueta y multiplicar este número por el número estimado de agregaciones que tiene en cuenta el número de glóbulos blancos. Este número estimado puede añadirse entonces al número real de plaquetas detectadas para obtener un recuento de plaquetas corregido.

25 Además de la técnica de recuento de plaquetas corregido comentada anteriormente, realizaciones de la presente invención abarcan el uso de otras técnicas que también implican estimar un recuento de plaquetas corregido estimando números de plaquetas contenidas en agregaciones plaquetarias, y después añadir este valor estimado al número real de plaquetas contadas con el fin de obtener un recuento de plaquetas total (corregido). Por ejemplo, la técnica de recuento de plaquetas corregido comentada a continuación implica usar un cálculo de agregación plaquetaria tal como se describió anteriormente, además de parámetros a partir de un módulo de glóbulos rojos nucleados, y funciones de distribución de la probabilidad. Por consiguiente, realizaciones de la presente invención proporcionan enfoques para lograr recuentos de plaquetas corregidos que implican técnicas únicas para cuantificar plaquetas dentro de las agregaciones y medios para proporcionar un recuento de plaquetas corregido. De manera similar, realizaciones de la presente invención abarcan el uso de un sistema de análisis celular, tal como un analizador de hematología, para identificar agregaciones plaquetarias a partir de un módulo de NRBC, calcular un recuento de plaquetas perdidas en agregaciones y añadir este número de recuento perdido a un recuento de plaquetas notificadas u observadas, para obtener un recuento de plaquetas corregido.

30 Recuento de plaquetas corregido (método II)

35 Las figuras 7H a 7J ilustran aspectos de un método a modo de ejemplo para determinar un recuento de plaquetas corregido, según realizaciones de la presente invención. Tal como se muestra en la figura 7H, el método puede implicar establecer una relación entre un histograma 702 de plaquetas de módulo de CBC y un histograma 704 de CC de NRBC, por ejemplo procesando perlas de látex de volumen o características 706 conocidos mediante módulos de CBC y NRBC, respectivamente. Tal como se muestra en este caso, puede mapearse un canal en el histograma de plaquetas de CBC (por ejemplo en unidades de femtolitros) a un canal de CC en el módulo de NRBC, para determinar una correlación que puede usarse para transformar la salida de plaquetas de CBC en una salida de CC de NRBC, tal como se indica mediante la etapa 710.

40 Una muestra 712 de plaquetas individuales que tiene una distribución de tamaño de población puede procesarse

con un módulo de CBC, tal como se indica mediante la etapa 714, para obtener una salida de módulo de CBC correspondiente a la población de plaquetas individuales. Usando la correlación obtenida en la etapa 710, es posible mapear la salida de módulo de CBC obtenida mediante la etapa 714 a un espacio de CC de NRBC, tal como se indica mediante la etapa 716. La salida de NRBC transformada obtenida mediante la etapa 716 puede normalizarse, tal como se indica mediante la etapa 718, y representarse como función de distribución de la probabilidad de medidas de CC para células plaquetarias individuales, tal como se ilustra en el gráfico 720.

Tal como se muestra en la figura 71, una muestra 722 de plaquetas agregadas que tiene una distribución de tamaño de población puede procesarse con un módulo de NRBC, tal como se indica mediante la etapa 724, para obtener una salida de módulo de NRBC correspondiente a la población de agregaciones plaquetarias. La muestra biológica puede contener una población de agregaciones plaquetarias, de tal manera que agregaciones más pequeñas contienen números menores de plaquetas (por ejemplo  $n=2$ ), y agregaciones más grandes contienen números mayores de plaquetas (por ejemplo  $n=13$ ). En algunos casos, las agregaciones plaquetarias presentes en la muestra presentan una distribución de población, de tal manera que diferentes agregaciones incluyen diferentes números de plaquetas. Por ejemplo, algunas agregaciones de la población pueden incluir 5 plaquetas, algunas agregaciones pueden incluir 10 plaquetas, algunas agregaciones pueden incluir 20 plaquetas y así sucesivamente. Tal como se muestra en la etapa 724, el número total de acontecimientos de agregación plaquetaria puede representarse como  $i$ . El gráfico 726 ilustra un histograma de CC de NRBC a modo de ejemplo, en el que la medida de CC se representa como  $x_i$ . Para cada acontecimiento de agregación identificado en el módulo de NRBC (por ejemplo mediante la etapa 724), es posible estimar el número de células plaquetarias que se producen en esa agregación, usando un enfoque de probabilidad máxima, tal como se indica mediante la etapa 730.

Tal como se representa en el gráfico 720, después de la normalización, el histograma resultante puede representarse como  $p_1(x)$  (donde  $x$  es el número de canal de CC), representando por tanto la función de distribución de la probabilidad de las medidas de CC de células plaquetarias individuales. Esa función de distribución de la probabilidad  $p_1(x)$  puede someterse a convolución, tal como se indica en la etapa 728, para obtener una función de distribución de la probabilidad de medidas de CC para agregaciones plaquetarias que contienen múltiples células plaquetarias. Más específicamente, es posible calcular las funciones de distribución de la probabilidad de las medidas de CC para agregaciones plaquetarias que contienen múltiples células plaquetarias. La función de distribución de la probabilidad de las medidas de CC para agregaciones plaquetarias que contienen dos células plaquetarias puede representarse mediante  $p_2(x)$ , que es igual a la convolución de  $p_1(x)$  y  $p_1(x)$ . La función de distribución de la probabilidad de las medidas de CC para agregaciones plaquetarias que contienen  $n$  células plaquetarias se representa mediante  $p_n(x)$ , que es igual a la convolución de  $p_{n-1}(x)$  y  $p_1(x)$ .

Tal como se muestra en la etapa 730, para cada acontecimiento de agregación plaquetaria ( $i$ ) identificado en el módulo de NRBC, es posible calcular el número de células plaquetarias en la agregación con un enfoque de probabilidad máxima basándose en la función de distribución de la probabilidad de las medidas de CC para agregaciones plaquetarias que contienen  $n$  células plaquetarias. De manera más específica, el número estimado de células plaquetarias en el acontecimiento de agregación plaquetaria  $i$  (con medida de CC  $x_i$ ) puede determinarse con la siguiente ecuación:

$$N_i = \arg \max_n [p_n(x_i)]$$

De esta manera, puede usarse la teoría de probabilidades para determinar el número más probable de las plaquetas en una agregación, para cada tamaño de agregación en una población de agregaciones plaquetarias. Por ejemplo, para cada volumen observado (por ejemplo, agregación plaquetaria que tiene un volumen conocido) en una distribución de volúmenes, es posible estimar el número de plaquetas en ese volumen (por ejemplo, usando el número más probable de plaquetas por volumen unitario de agregación). Tal como se muestra en la etapa 732, es posible sumar todo el intervalo de tamaño de agregación para obtener el número total de plaquetas que se producen en agregaciones plaquetarias. Tal como se muestra en este caso, el número total puede calcularse usando la siguiente ecuación:

$$E_c = \sum_i N_i$$

Tal como se representa en la figura 7J, conociendo el número 742 total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias ( $E_c$ ) obtenido en la etapa 732, el recuento 744 de WBC ( $E_w$ ) obtenido a partir de un módulo de NRBC y la concentración 746 de WBC (WBC) obtenida a partir de un módulo de CBC, es posible estimar o calcular el recuento de plaquetas perdidas en las agregaciones plaquetarias, tal como se indica en la etapa 748. Por ejemplo, el recuento de plaquetas perdidas en agregaciones plaquetarias puede representarse como  $PLT_c$ , y calcularse como  $PLT_c = (E_c/E_w) * WBC$ , donde  $E_w$  es el número de acontecimientos de glóbulos blancos en el módulo de NRBC y WBC es la concentración de glóbulos blancos a partir del módulo de CBC.

Puede determinarse un recuento de plaquetas observadas (PLT) mediante un módulo de CBC tal como se indica en

la etapa 752, y puede determinarse un recuento de plaquetas corregido basándose en el recuento de plaquetas perdidas y el recuento de plaquetas observadas tal como se indica en la etapa 754. Por ejemplo, el recuento de plaquetas corregido puede representarse como  $PLT_{cor}$  y calcularse como  $PLT_{cor} = PLT_c + PLT$ .

5 La figura 8 ilustra esquemáticamente un método 800 para obtener un parámetro de plaquetas (por ejemplo recuento de plaquetas corregido) según realizaciones de la presente invención. Tal como se representa en este caso, el método incluye obtener datos de hemograma completo (CBC), datos de volumen, conductividad y dispersión (VCS), o combinaciones de los mismos, a partir de muestras biológicas obtenidas a partir de individuos (por ejemplo durante examen de rutina), usando un sistema de análisis celular que está equipado para obtener parámetros de  
10 acontecimientos celulares, tal como un analizador de hematología, tal como se indica mediante la etapa 820. Pueden usarse parámetros de CBC, parámetros de VCS o combinaciones de los mismos a partir de muestras analizadas para determinar los parámetros de plaquetas, tal como se indica mediante la etapa 830. Los métodos también pueden incluir emitir información de estatus de plaquetas, tal como se indica en la etapa 840.

15 **Sistemas de análisis**

Realizaciones de la presente invención abarcan sistemas de análisis celular y otros dispositivos de investigación biológica automatizados que están programados para llevar a cabo métodos de predicción o identificación de estatus de plaquetas según técnicas tal como se dan a conocer en el presente documento. Por ejemplo, un sistema que está  
20 equipado para obtener y/o procesar múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología, o procesadores u otros sistemas de módulos o informáticos asociados con el mismo o incorporados en el mismo, pueden estar configurados para recibir como entrada valores para las diversas medidas o parámetros comentados en el presente documento, y emitir automáticamente un recuento de plaquetas predicho. El recuento predicho puede proporcionar una indicación de que el individuo tiene un nivel de plaquetas normal, un nivel de  
25 plaquetas elevado o un nivel de plaquetas reducido, por ejemplo. En algunos casos, un sistema que está equipado para obtener y/o procesar múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología, puede incluir un procesador o medio de almacenamiento que está configurado para implementar automáticamente un análisis de plaquetas, mediante lo cual datos obtenidos a partir de una muestra biológica analizada mediante un sistema que está equipado para obtener múltiples parámetros de detección de ángulo de luz,  
30 tal como un analizador de hematología, también se procesan mediante un sistema que está equipado para obtener y/o procesar múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología, y se proporciona o se emite una predicción o indicación de plaquetas mediante el sistema que está equipado para obtener y/o procesar múltiples parámetros de detección de ángulo de luz, tal como un analizador de hematología, basándose en los datos analizados.

35 La figura 9 representa aspectos de un módulo 900 de CBC a modo de ejemplo, según realizaciones de la presente invención. Tales módulos de CBC, que pueden formar parte de un sistema tal como un analizador de hematología, pueden funcionar para controlar o llevar a cabo diversas funciones mecánicas así como funciones de medición electrónica o fotométrica para el recuento o la evaluación de células de WBC, RBC y PLT y mediciones de  
40 hemoglobina. Puede usarse un módulo de CBC a modo de ejemplo para preparar las muestras para el análisis de CBC y para generar medidas de parámetros de CBC mediante conjuntos de baño de abertura (por ejemplo baño 910 de WBC y baño 920 de RBC).

Pueden contarse elementos celulares de la sangre (por ejemplo eritrocitos, leucocitos y plaquetas) usando métodos de impedancia eléctrica. Por ejemplo, puede dividirse una muestra de sangre completa aspirada en dos alícuotas y mezclarse con un diluyente isotónico. La primera dilución puede suministrarse al baño 920 de abertura de RBC, y la  
45 segunda puede suministrarse al baño 910 de abertura de WBC. En la cámara de RBC, pueden contarse tanto RBC como plaquetas y distinguirse mediante impedancia eléctrica a medida que las células pasan a través de aberturas de detección. Por ejemplo, pueden contarse partículas de entre 2 y 20 fl como plaquetas, y aquellas de más de 36 fl pueden contarse como RBC. Para el procesamiento en cámara de WBC, puede añadirse un reactivo de lisis de RBC a la alícuota de dilución de WBC para someter a lisis los RBC y liberar hemoglobina, y después pueden contarse los  
50 WBC mediante impedancia en aberturas de detección del baño de WBC. En algunos casos, los baños pueden incluir múltiples aberturas. Por tanto, por ejemplo, puede obtenerse un recuento de acontecimientos de plaquetas usado en una técnica de enumeración de plaquetas usando un baño de abertura triple de RBC. De manera similar, puede obtenerse un análisis de acontecimientos de WBC (tal como concentración de WBC) usado en una técnica de enumeración de plaquetas usando un baño de abertura triple de WBC.

Una técnica de preparación de muestras de CBC a modo de ejemplo puede incluir dos procedimientos, adquisición de muestra y suministro de muestra. La adquisición de muestra puede producirse cuando se aspiran 165 ul de  
60 muestra de paciente y se dirigen a una válvula de toma de muestras de sangre (BSV), por ejemplo tal como se representa en la figura 7G. La BSV puede funcionar para dirigir volúmenes específicos de la muestra de paciente con los reactivos de analizador de hematología para su suministro a los dos baños de abertura triple. La muestra de paciente y los reactivos de analizador de hematología pueden suministrarse a la parte inferior de baños de abertura a un ángulo que, con un diseño redondo, permite que la muestra y los reactivos se mezclen exhaustivamente sin  
65 mezclar burbujas. Después puede prepararse la muestra para su medición y análisis. Según algunas realizaciones, en el baño de WBC, pueden combinarse 6,0 ml ( $\pm 1,0\%$ ) de diluyente de analizador de hematología y 28 ul de

muestra con 1,08 ml ( $\pm 1,0\%$ ) de lisis celular de analizador de hematología para una dilución final de 1:251. Según algunas realizaciones, en el baño de RBC, pueden combinarse 10 ml ( $\pm 1,0\%$ ) de diluyente de analizador de hematología y 1,6  $\mu$ l de muestra para una dilución final de 1:6250. Después de mezclarse la muestra de paciente y los reactivos de analizador de hematología, pueden aplicarse vacío y corriente de abertura a las aberturas para las mediciones de recuento celular y volumen celular. Los recuentos de RBC y PLT también pueden incluir la aplicación de flujo de barrido para impedir la recirculación de células cerca de la abertura. En determinadas realizaciones, la adquisición de datos para RBC y PLT puede ser de hasta un máximo de 20 segundos y para WBC un máximo de 10 segundos. En determinadas realizaciones, todos los pulsos analógicos generados mediante los conjuntos de abertura pueden amplificarse mediante una tarjeta preamplificadora y después enviarse a una tarjeta de analizador de acondicionamiento de señal de CBC para una conversión de analógico a digital y extracción de parámetros. Según algunas realizaciones, puede usarse un sistema tal como un analizador de hematología para medir múltiples parámetros para cada acontecimiento celular, y puede usarse un procedimiento de extracción de parámetros digitales para proporcionar medidas digitales tales como tiempo, volumen (atributos de pulso incluyendo amplitud y anchura de pulso), recuento y tasa de recuento, y tiempo de espera. Tales medidas pueden usarse, opcionalmente por un sistema tal como un analizador de hematología, para la edición de pulsos, corrección de coincidencia, votación de recuento, generación de histogramas para WBC, RBC y PLT, votación de histograma, análisis de patrones y corrección de interferencias, y similares.

La figura 10A representa aspectos de una cámara de procesamiento de NRBC a modo de ejemplo, según realizaciones de la presente invención. De manera relacionada, la figura 10B representa aspectos de un ciclo de procesamiento de NRBC a modo de ejemplo, según realizaciones de la presente invención. Tal como se muestra en este caso, puede diluirse una porción de la muestra de sangre y tratarse con un reactivo de lisis para retirar de manera selectiva glóbulos rojos no nucleados al tiempo que se mantienen los NRBC, WBC y cualquier plaqueta o residuo celular que pueda estar presente en un estado predecible. Un protocolo de análisis de NRBC a modo de ejemplo puede incluir suministrar sangre a la cámara de NRBC, poner en contacto la cantidad de sangre con un agente de lisis celular (por ejemplo mezclando la sangre y el agente de lisis), transportar la mezcla hasta una celda de flujo para su análisis y presentar los resultados.

Cada uno de los cálculos u operaciones descritos en el presente documento pueden realizarse usando un ordenador u otro procesador que tiene hardware, software y/o firmware. Las diversas etapas de método pueden realizarse mediante módulos, y los módulos pueden comprender cualquiera de una amplia variedad de hardware y/o software de procesamiento de datos digitales y/o analógicos dispuestos para realizar las etapas de método descritas en el presente documento. Los módulos comprenden opcionalmente hardware de procesamiento de datos adaptado para realizar una o más de estas etapas al tener código de programación de máquina apropiado asociado con el mismo, estando los módulos para dos o más etapas (o porciones de dos o más etapas) integrados en una única placa de procesador o separados en placas de procesador diferentes en cualquiera de una amplia variedad de arquitecturas de procesamiento integradas y/o distribuidas. Estos métodos y sistemas emplean unos medios tangibles que implementan código legible por máquina con instrucciones para realizar las etapas de método descritas anteriormente. Los medios tangibles adecuados pueden comprender una memoria (incluyendo una memoria volátil y/o una memoria no volátil), unos medios de almacenamiento (tales como una grabación magnética en un disquete, un disco duro, una cinta o similares; en una memoria óptica tal como un CD, un CD-R/W, un CD-ROM, un DVD o similares; o cualquier otro medio de almacenamiento digital o analógico) o similares.

Son posibles diferentes disposiciones de los componentes representados en los dibujos o descritos anteriormente, así como componentes y etapas no mostrados o descritos. De manera similar, algunas características y combinaciones secundarias son útiles y pueden emplearse sin referencia a otras características y combinaciones secundarias. Se han descrito realizaciones de la invención con fines ilustrativos y no restrictivos, y realizaciones alternativas resultarán evidentes para los lectores de esta patente. En determinados casos, pueden realizarse o ejecutarse etapas de método u operaciones en un orden diferente, o pueden añadirse, eliminarse o modificarse operaciones. Puede apreciarse que, en determinados aspectos de la invención, puede sustituirse un único componente por múltiples componentes, y pueden sustituirse múltiples componentes por un único componente, para proporcionar un elemento o estructura o para realizar una función o funciones dadas. Excepto cuando tal sustitución no resulte operativa para la práctica de determinadas realizaciones de la invención, se considera que tal sustitución está dentro del alcance de la invención.

Son posibles diferentes disposiciones de los componentes representados en los dibujos o descritos anteriormente, así como componentes y etapas no mostrados o descritos. De manera similar, algunas características y combinaciones secundarias son útiles y pueden emplearse sin referencia a otras características y combinaciones secundarias. Se han descrito realizaciones de la invención con fines ilustrativos y no restrictivos, y realizaciones alternativas resultarán evidentes para los lectores de esta patente.

**REIVINDICACIONES**

1. Sistema de hematología para determinar un recuento de plaquetas en una muestra biológica, comprendiendo el sistema un primer módulo configurado para determinar un recuento de agregaciones plaquetarias y un recuento de glóbulos blancos en el que el sistema comprende además:  
 un segundo módulo configurado para determinar un recuento de plaquetas observadas y una concentración de glóbulos blancos; y  
 un módulo de procesamiento de datos en conectividad con el primer módulo y el segundo módulo, en el que el módulo de procesamiento de datos comprende un procesador y un medio tangible legible por ordenador, estando el medio legible por ordenador programado con una aplicación informática que, cuando se ejecuta por el procesador, hace que el procesador determine el recuento de plaquetas basándose en la suma del recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas perdidas, en el que el recuento de plaquetas perdidas comprende un producto de multiplicación de un primer factor y un segundo factor, basándose el primer factor en una estimación del número total de células plaquetarias que se producen en las agregaciones plaquetarias y el recuento de glóbulos blancos, y siendo el segundo factor la concentración de glóbulos blancos.
  
2. Sistema según la reivindicación 1, en el que el primer módulo comprende además:

  - un elemento óptico que tiene una zona de interrogación de células;
  - una trayectoria de flujo configurada para suministrar una corriente hidrodinámicamente enfocada de la muestra biológica hacia la zona de interrogación de células;
  - un conjunto de electrodo configurado para medir la impedancia de corriente continua (CC) de células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células;
  - una fuente de luz orientada para dirigir un haz de luz a lo largo de un eje de haz para irradiar las células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células;
  - un conjunto de detección de luz ópticamente acoplado a la zona de interrogación de células para medir luz dispersada por, y transmitida a través de, las células irradiadas de la muestra biológica, estando el conjunto de detección de luz configurado para medir:
    - una primera luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un primer intervalo de ángulos con respecto al eje de haz de luz;
    - una segunda luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un segundo intervalo de ángulos con respecto al eje de haz de luz, siendo el segundo intervalo diferente del primer intervalo; y
    - una luz axial propagada a partir de las células irradiadas a lo largo del eje de haz.
  
3. Sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que el segundo módulo comprende además:

  - un primer baño de abertura configurado para determinar el recuento de plaquetas observadas; y
  - un segundo baño de abertura configurado para determinar la concentración de glóbulos blancos.
  
4. Sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el recuento de plaquetas perdidas comprende un producto de multiplicación del primer factor, el segundo factor y un tercer factor, y en el que el primer módulo está configurado para determinar un volumen de agregación plaquetaria y el segundo módulo está configurado para determinar un volumen de plaqueta individual, comprendiendo el tercer factor una razón del volumen de agregación plaquetaria con respecto al volumen de plaqueta individual, y comprendiendo el primer factor una razón de la estimación del número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias con respecto al recuento de glóbulos blancos.
  
5. Sistema según la reivindicación 4, en el que el primer módulo está configurado para determinar el recuento de agregaciones plaquetarias basándose en una medida de luz que comprende un miembro seleccionado del grupo que consiste en una medida de dispersión de la luz a ángulo inferior rotada (RLALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio inferior extendido (ELMALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio superior rotada (RUMALS) y una medida de pérdida de luz axial (ALL).
  
6. Sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la aplicación informática del módulo de procesamiento de datos, cuando se ejecuta por el procesador, hace que el procesador determine un número respectivo de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria basándose en una función de distribución de la probabilidad y determine un número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias basándose en una suma de los números respectivos de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria, y en el que el primer factor comprende una razón del número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias con respecto al recuento de glóbulos

blancos.

- 5
7. Sistema según la reivindicación 6, en el que el primer módulo está configurado para determinar el recuento de agregaciones plaquetarias basándose en una medida de impedancia de corriente (CC).
8. Sistema según las reivindicaciones 1-7, en el que:
- (a) el primer módulo es un módulo de volumen, conductividad y dispersión (VCS); y/o  
(b) el segundo módulo es un módulo de hemograma completo (CBC).
- 10
9. Sistema según las reivindicaciones 1-8, en el que:
- (a) el primer baño de abertura comprende un baño de abertura de glóbulos rojos y el segundo baño de abertura comprende un baño de abertura de glóbulos blancos; y/o  
(b) el primer módulo es un módulo de glóbulos rojos nucleados; y/o  
(c) la muestra biológica comprende una muestra de sangre de un individuo.
- 15
10. Método automatizado para determinar un recuento de plaquetas en una muestra biológica, comprendiendo el método:
- 20
- determinar, usando un primer módulo, un recuento de agregaciones plaquetarias y un recuento de glóbulos blancos en el que el método comprende además:  
determinar, usando un segundo módulo, un recuento de plaquetas observadas y una concentración de glóbulos blancos; y
- 25
- determinar, usando un módulo de procesamiento de datos, el recuento de plaquetas basándose en la suma del recuento de plaquetas observadas y un recuento de plaquetas perdidas, en el que el recuento de plaquetas perdidas comprende un producto de multiplicación de un primer factor y un segundo factor, basándose el primer factor en una estimación del número total de células plaquetarias que se producen en las agregaciones plaquetarias y el recuento de glóbulos blancos, y siendo el segundo factor la concentración de glóbulos blancos, en el que además el módulo de procesamiento de datos comprende un procesador y un medio tangible legible por ordenador que está programado con una aplicación informática que, cuando se ejecuta por el procesador, hace que el procesador determine el recuento de plaquetas.
- 30
- 35
11. Método según la reivindicación 10, en el que determinar el recuento de agregaciones plaquetarias y el recuento de glóbulos blancos usando el primer módulo comprende:
- 40
- suministrar una corriente hidrodinámicamente enfocada de la muestra biológica hacia una zona de interrogación de células de un elemento óptico;  
medir, con un conjunto de electrodo, impedancia de corriente (CC) de células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células;  
irradiar, con un haz de luz que tiene un eje, células de la muestra biológica que pasan de manera individual a través de la zona de interrogación de células;  
medir, con un conjunto de detección de luz, una primera luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un primer intervalo de ángulos con respecto al eje de haz;
- 45
- medir, con el conjunto de detección de luz, una segunda luz propagada a partir de las células irradiadas dentro de un segundo intervalo de ángulos con respecto al eje de haz, siendo el segundo intervalo diferente del primer intervalo; y  
medir, con el conjunto de detección de luz, luz axial propagada a partir de las células irradiadas a lo largo del eje de haz.
- 50
12. Método según la reivindicación 10 u 11, en el que determinar el recuento de plaquetas observadas y la concentración de glóbulos blancos usando el segundo módulo comprende analizar la muestra biológica con un primer baño de abertura configurado para determinar el recuento de plaquetas observadas, y con un segundo baño de abertura configurado para determinar la concentración de glóbulos blancos.
- 55
13. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12:
- 60
- (a) que comprende además determinar un volumen de agregación plaquetaria usando el primer módulo y un volumen de plaqueta individual usando el segundo módulo, en el que el recuento de plaquetas perdidas comprende un producto de multiplicación del primer factor, el segundo factor y un tercer factor, comprendiendo el tercer factor una razón del volumen de agregación plaquetaria con respecto al volumen de plaqueta individual, y comprendiendo el primer factor una razón de la estimación del número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias con respecto al recuento de glóbulos blancos; y/o
- 65

(b) en el que el primer módulo determina el recuento de agregaciones plaquetarias basándose en una medida de luz que comprende un miembro seleccionado del grupo que consiste en una medida de dispersión de la luz a ángulo inferior rotada (RLALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio inferior extendido (ELMALS), una medida de dispersión de la luz a ángulo medio superior rotada (RUMALS) y una medida de pérdida de luz axial (ALL).

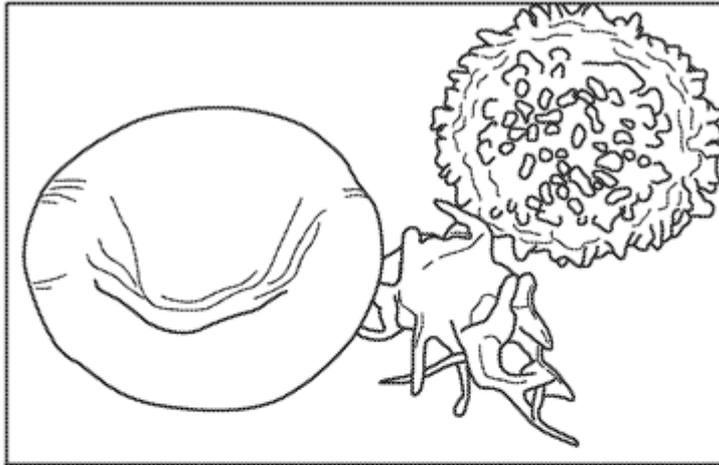
5  
14. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que la aplicación informática del módulo de procesamiento de datos, cuando se ejecuta por el procesador, hace que el procesador determine un número respectivo de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria basándose en una función de distribución de la probabilidad y determina un número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias basándose en una suma de los números respectivos de células plaquetarias para cada agregación plaquetaria, y en el que el primer factor comprende una razón del número total de células plaquetarias que se producen en agregaciones plaquetarias con respecto al acontecimiento de glóbulos blancos, opcionalmente en el que el primer módulo determina el acontecimiento de agregaciones plaquetarias basándose en una medida de impedancia de corriente (CC).

15. Método según:

20 (a) una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12 que se realiza usando un sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9; o

(b) el método según la reivindicación 13 que se realiza usando un sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o las reivindicaciones 8 ó 9 cuando dependen de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; o

25 (c) el método según la reivindicación 14 que se realiza usando un sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 6 ó 7, o las reivindicaciones 8 ó 9 cuando dependen de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 6 y 7.



(GLÓBULOS ROJOS, PLAQUETAS Y GLÓBULOS BLANCOS)

FIG.1A

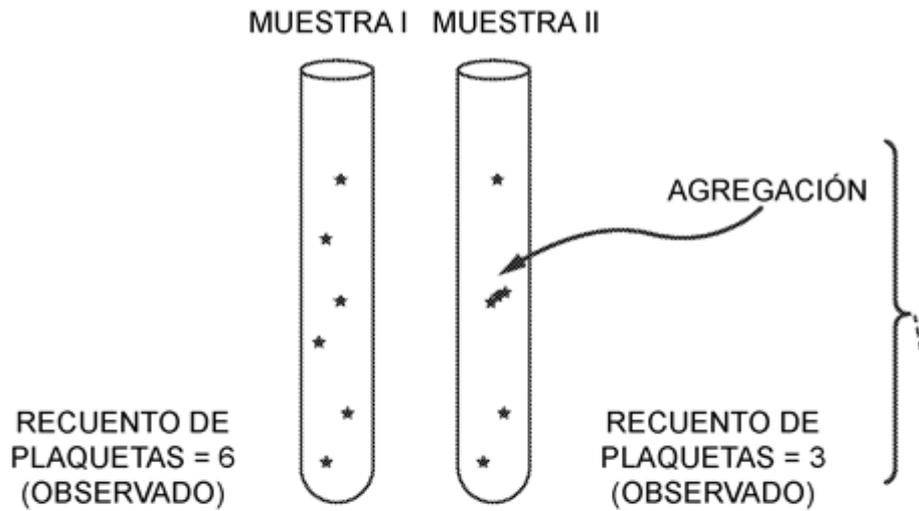


FIG.1B

$$\begin{aligned} & \text{RECUENTO DE PLAQUETAS (CORREGIDO)} \\ & = \\ & \text{RECUENTO DE PLAQUETAS (OBSERVADO) + NÚMERO DE} \\ & \text{PLAQUETAS CONTENIDAS EN AGREGACIONES (ESTIMADO)} \end{aligned}$$

FIG.1C

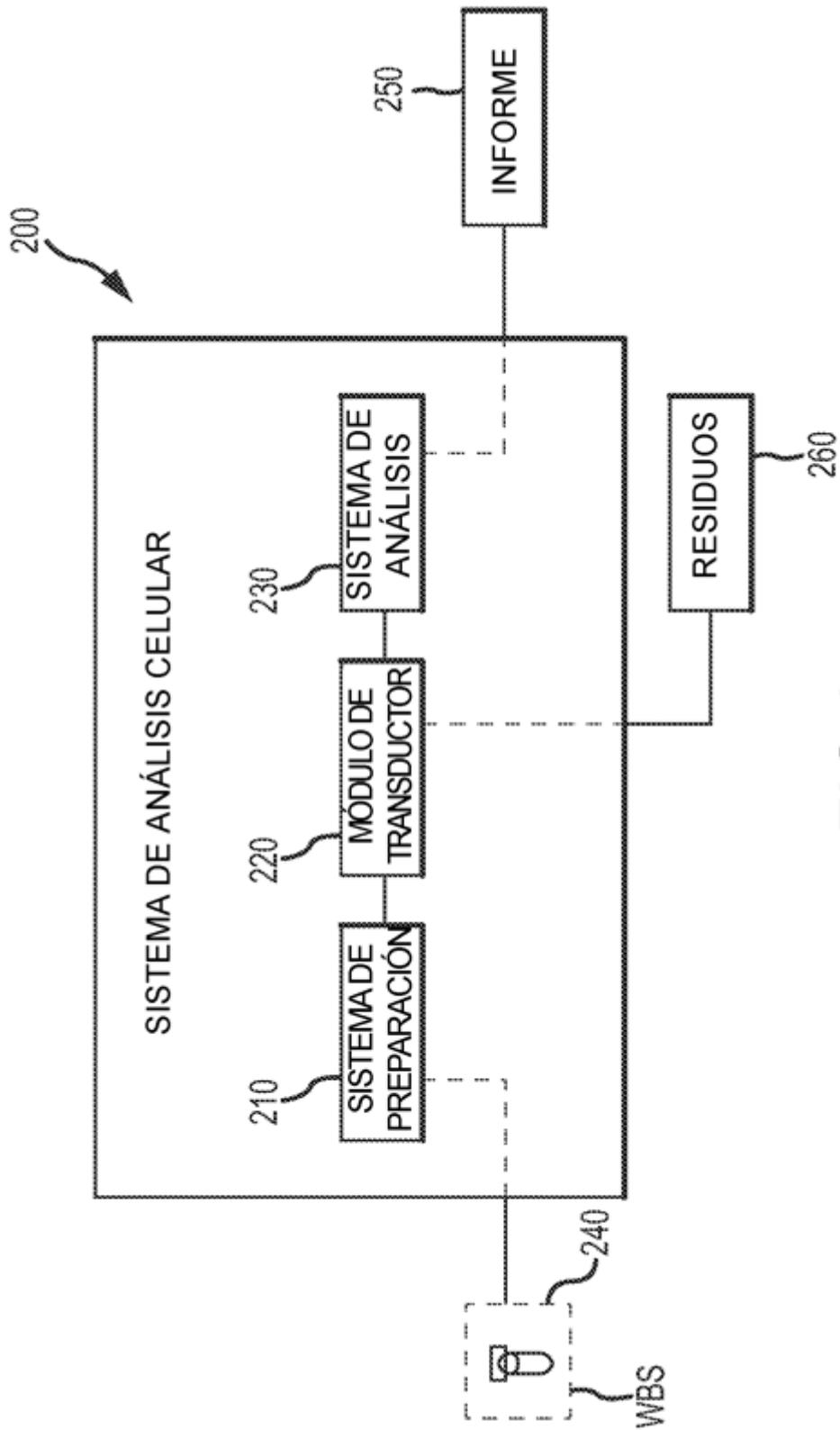


FIG.2



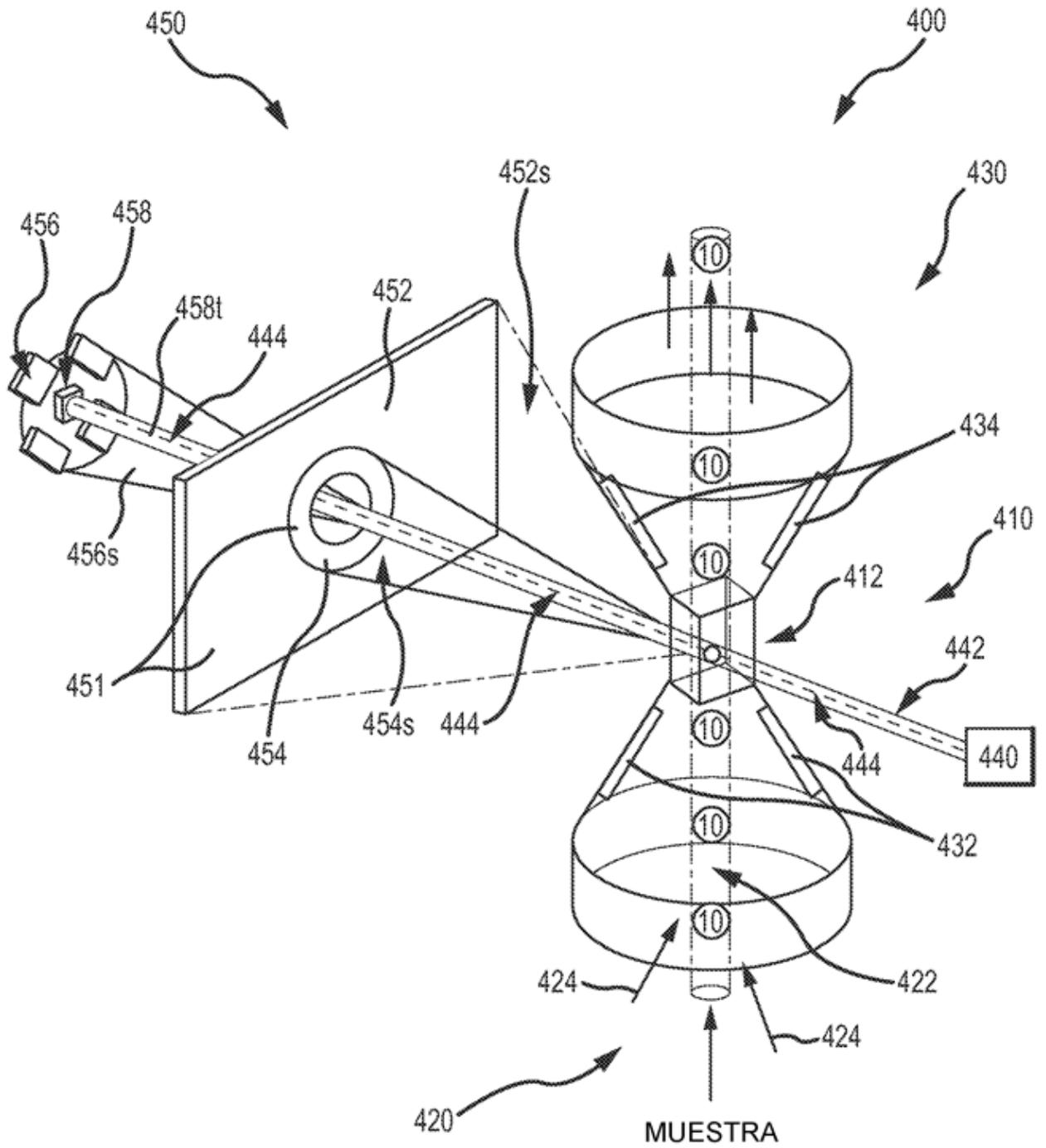


FIG. 4

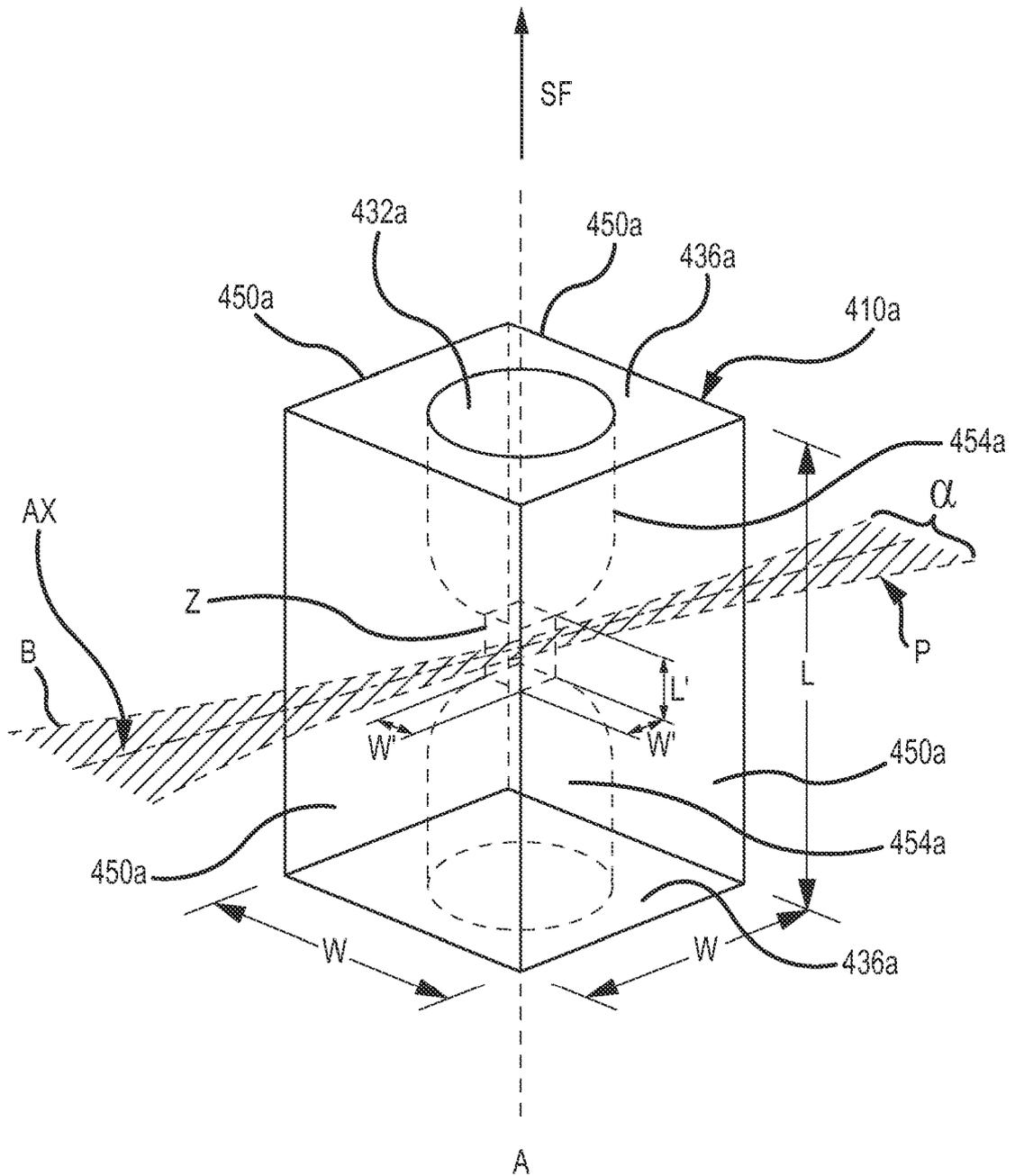


FIG.4A

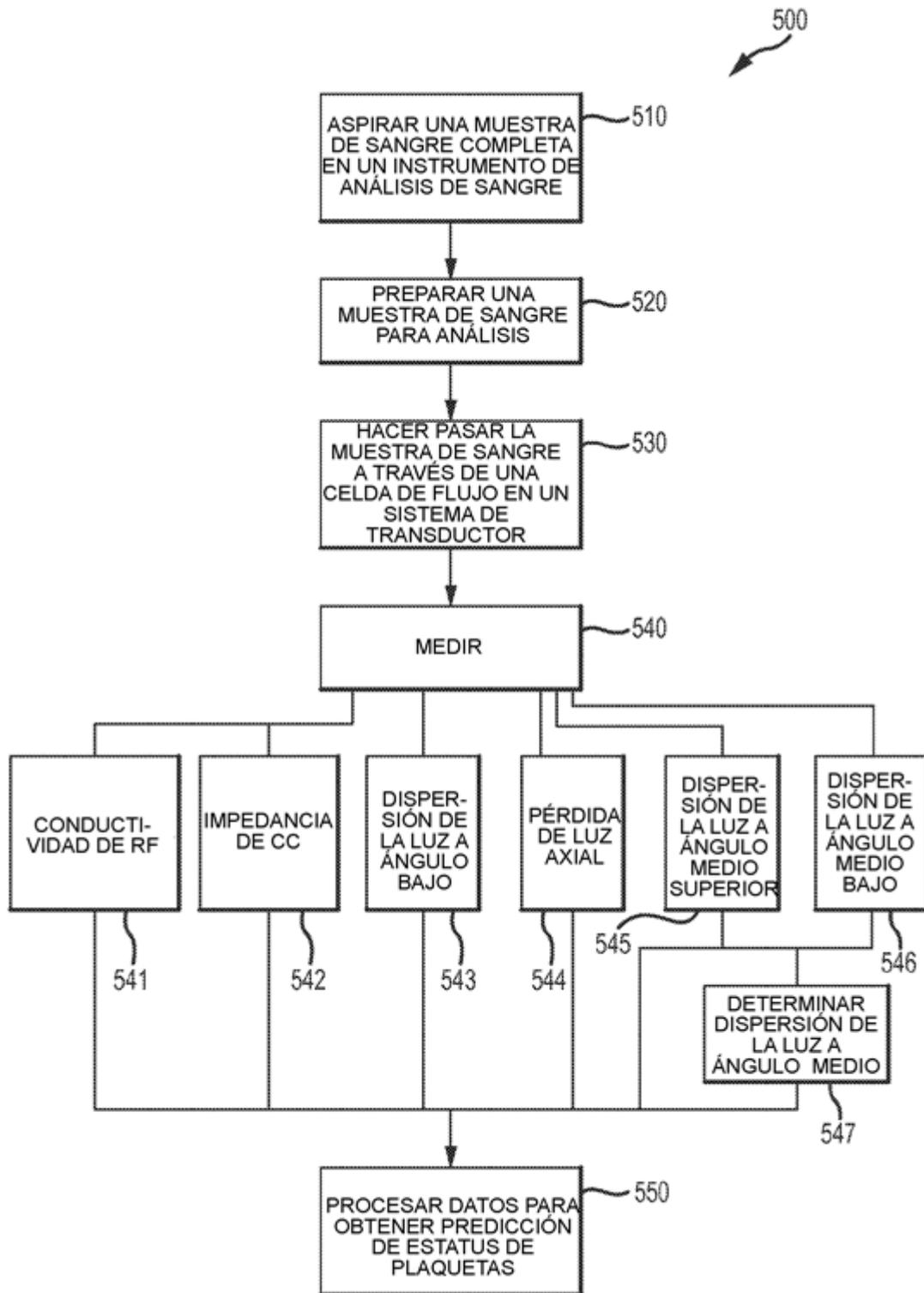


FIG.5

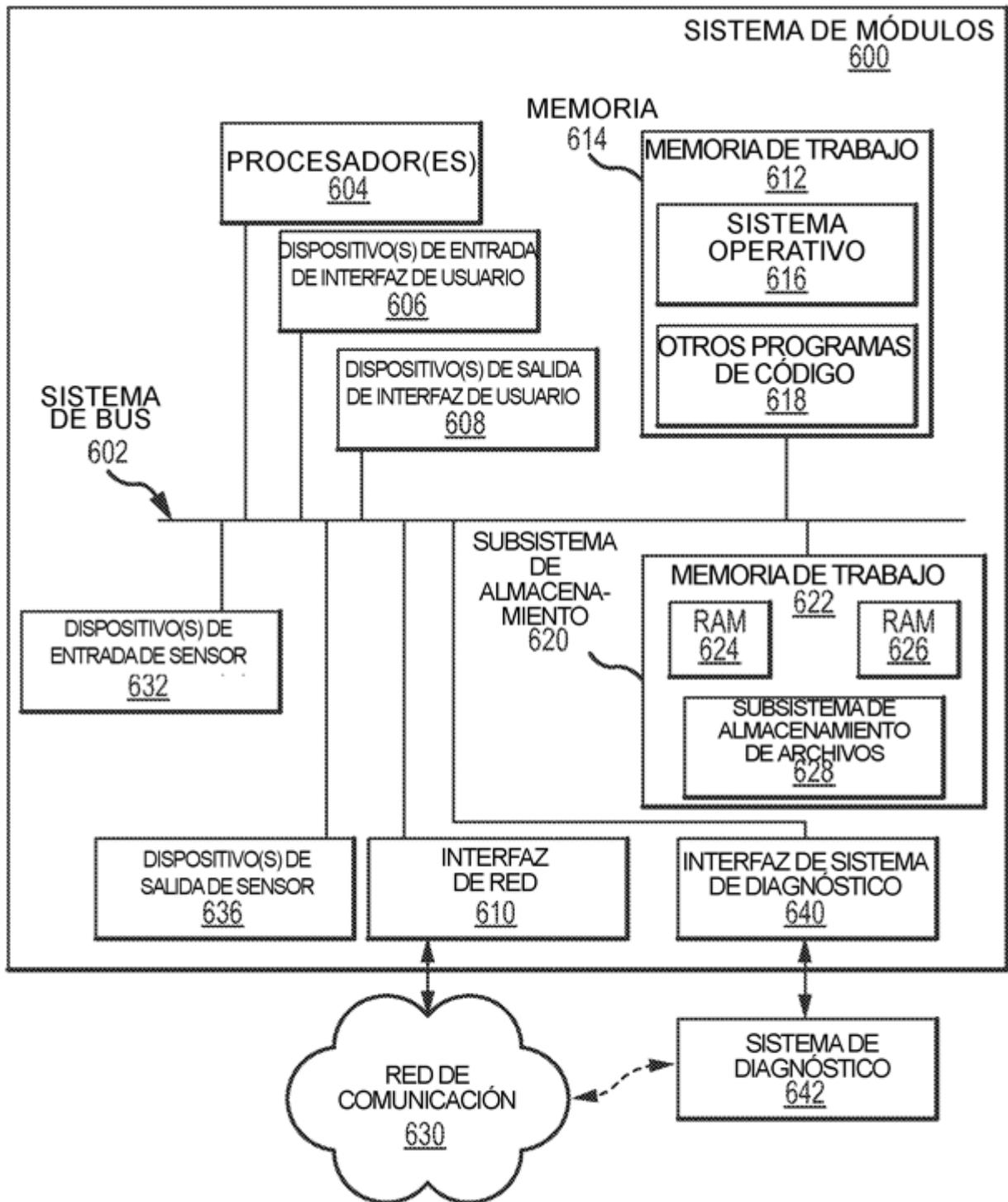


FIG.6

EN LÍNEA

← MENÚ →

RESULTADOS DE PACIENTE

---

ID DE MUESTRA

POS. DE TUBO

NOMBRE PACIENTE

ID PACIENTE

EDAD

SEXO

DIAGNOSTICO

UBICACION

---

CBC

PRUEBA	RESUL	INDIC.	ANTERIOR	DIAS
WBC	7.8			
UWBC	7.8			
RBC	4.67			
HGB	13.9			
HCT	41.4			
MCV	88.7			
MCH	29.7			
MCHC	33.5			
RDW	14.2			
RDW-SD	43.8			
PLT	229			
MPV	8.9			

LIBERADO

NRBC1

LIBERADO

AL2

RUMALS

ELMALS

MENS. SUSP/SIS/DEF

ACCIONES LAB.

NINGUNA

---

FILTRO: LIBERADO

NRBC1 RETIC1 5PD1

VER TODOS GRÁFICOS VCS

◀ ▶

---

VER REGISTRO

DATOS ADICIONALES

COMENTARIO

MOSTRAR DELTA

TRANSMITIR

MÁS

FIG.7

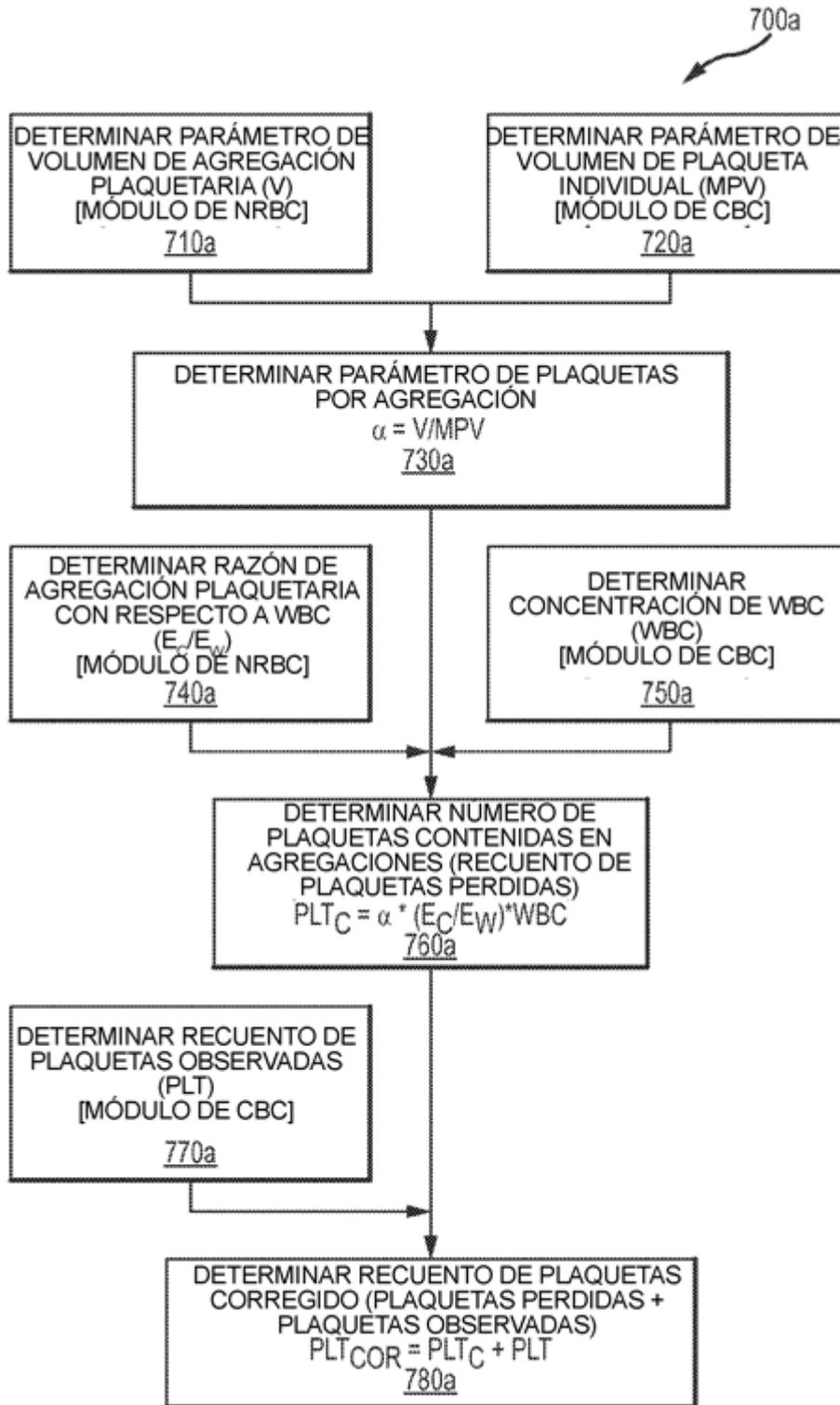


FIG.7A

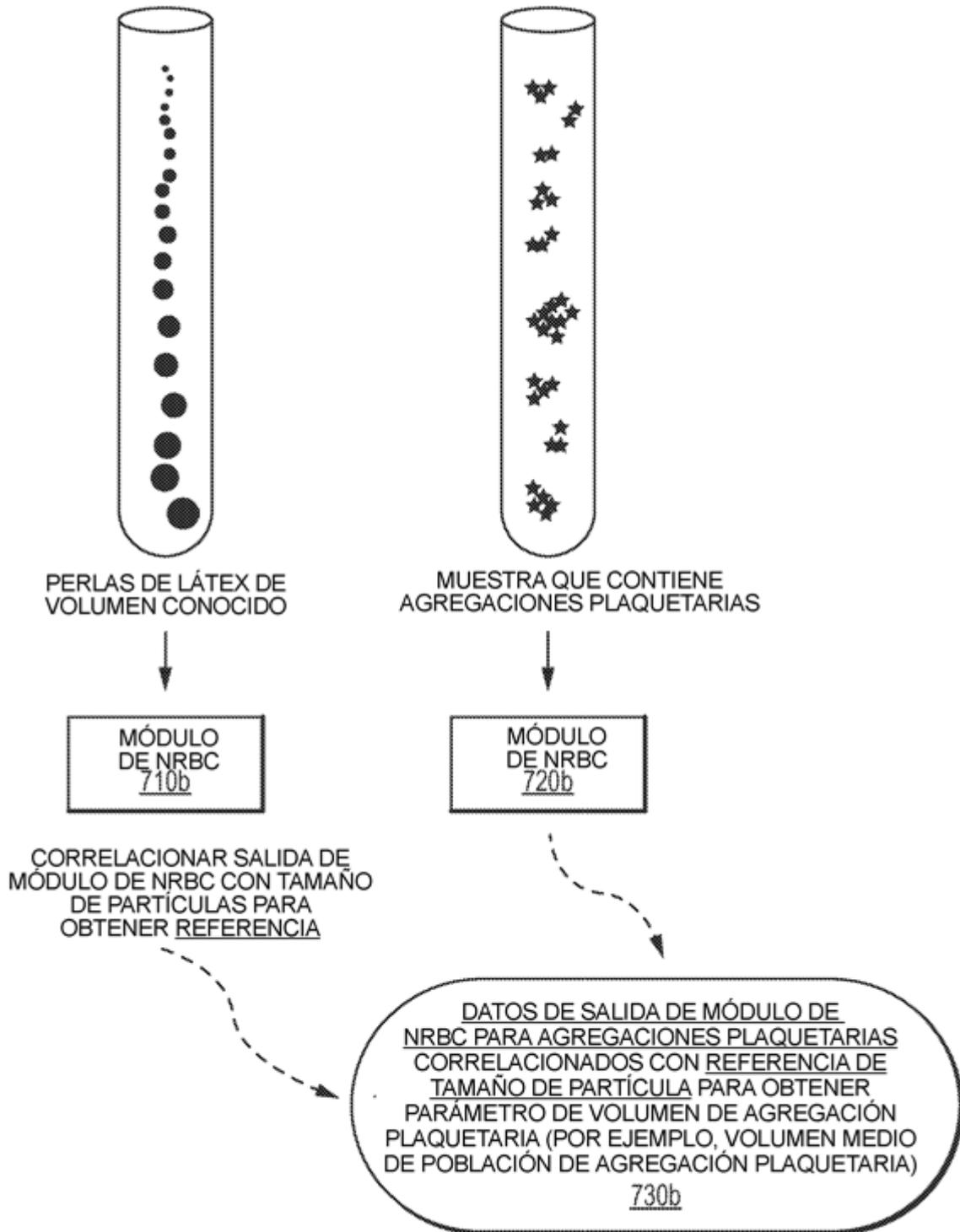


FIG.7B

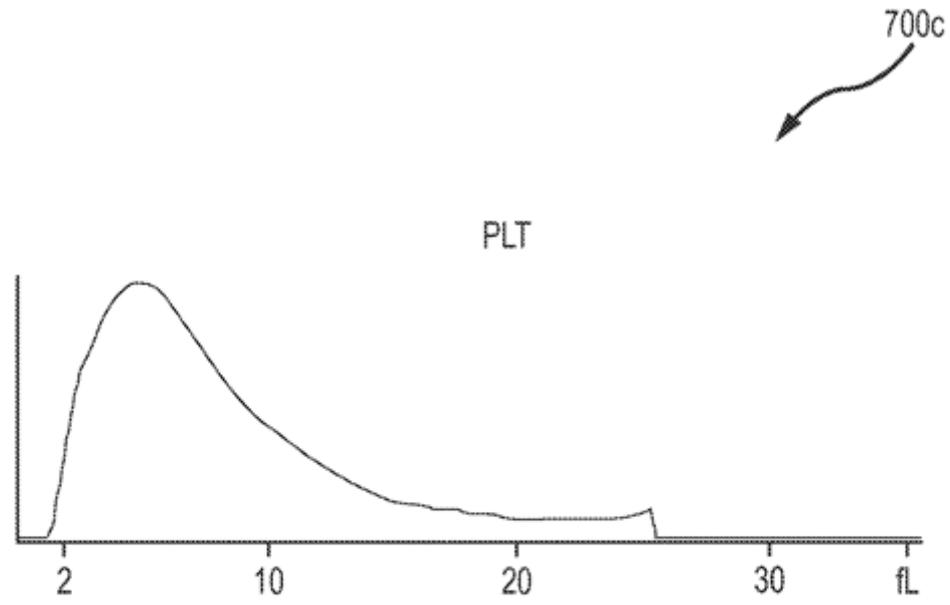


FIG.7C

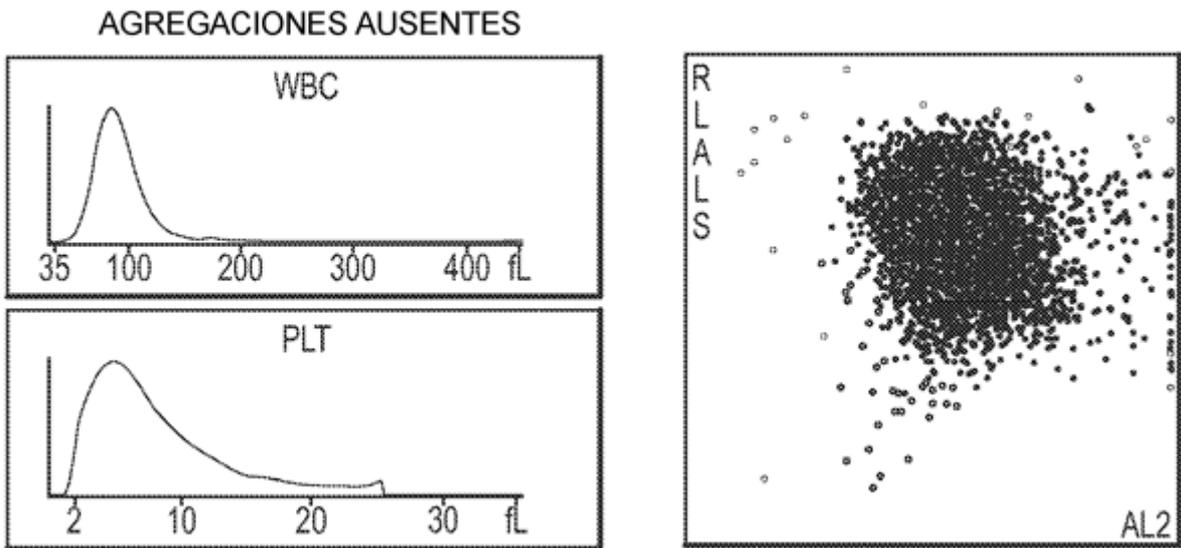


FIG.7D

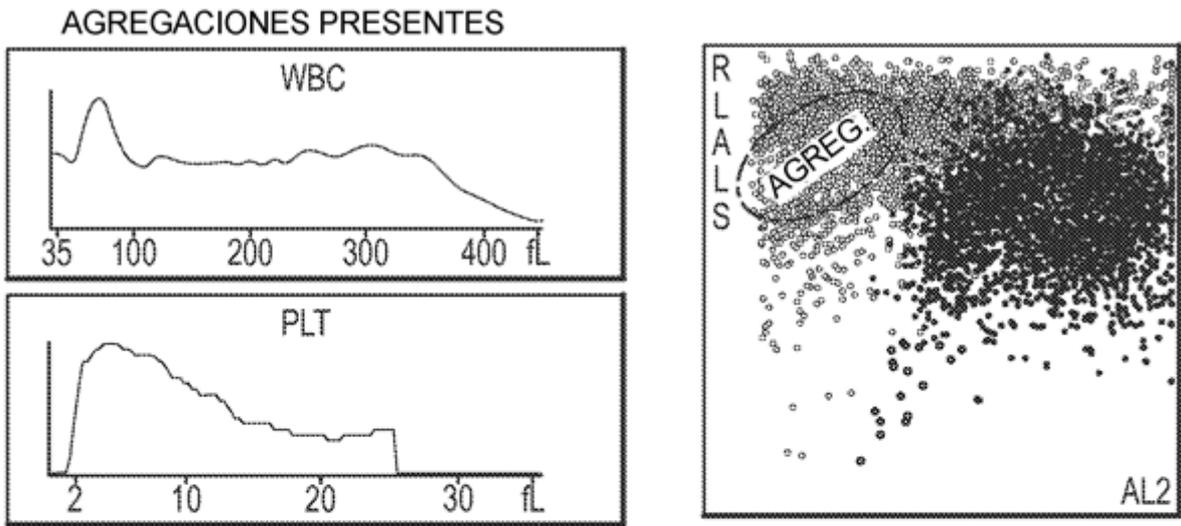


FIG.7E

REPRESENTACIONES  
GRÁFICAS DE  
CANAL DE NRBC

(PARA IDENTIFICAR  
ACONTECIMIENTOS  
DE AGREGACIONES  
PLAQUETARIAS)

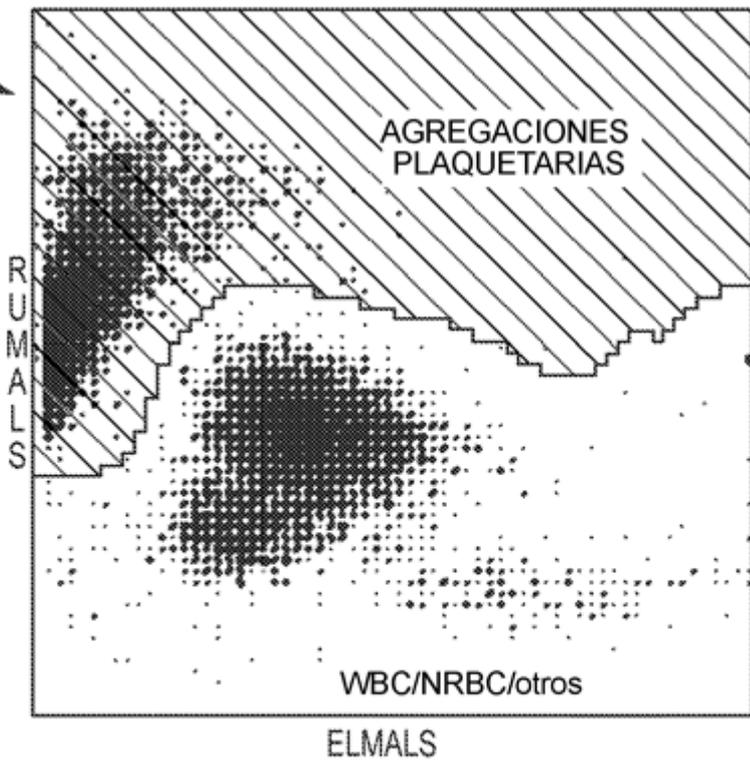


FIG.7F

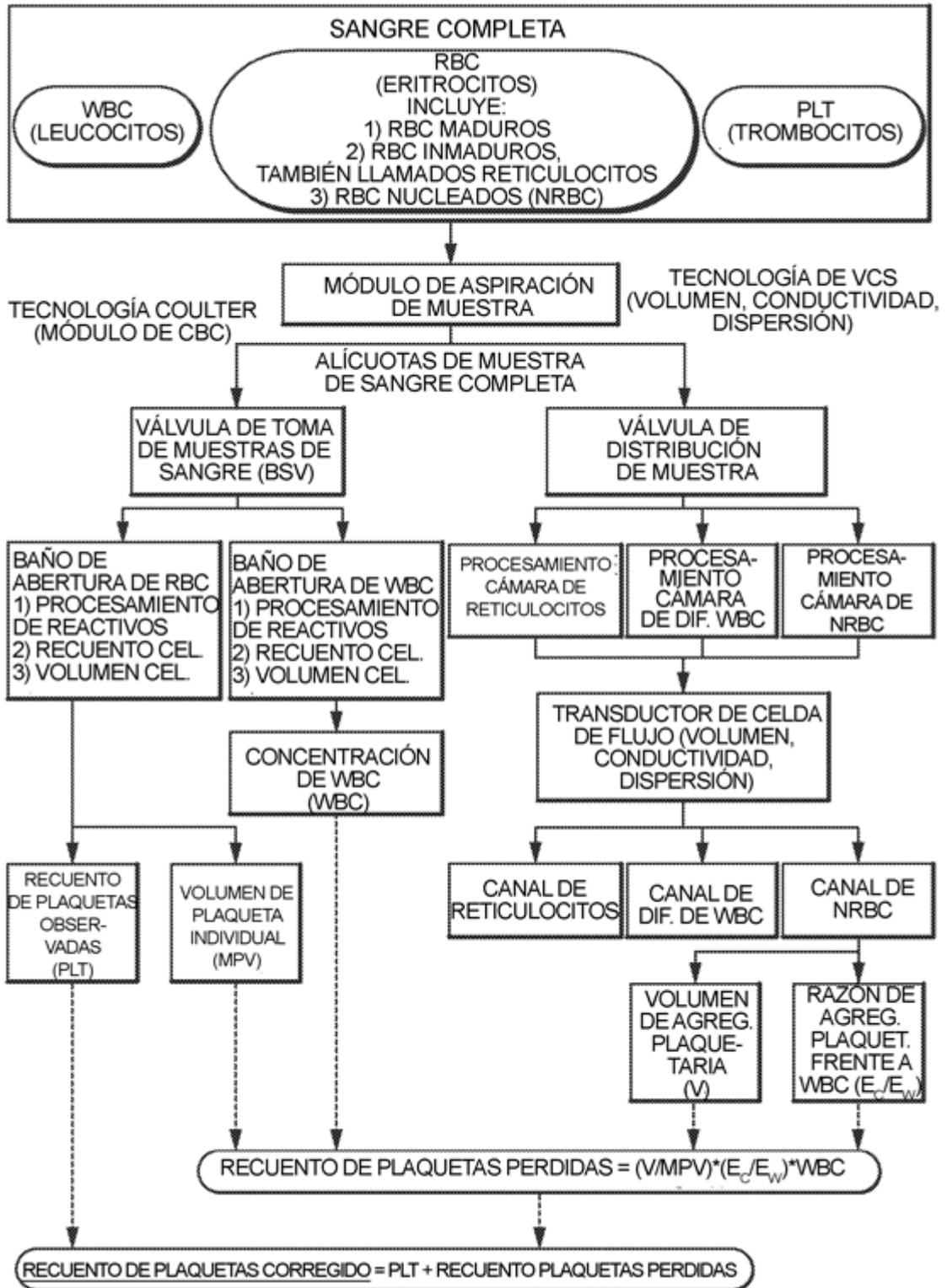


FIG.7G

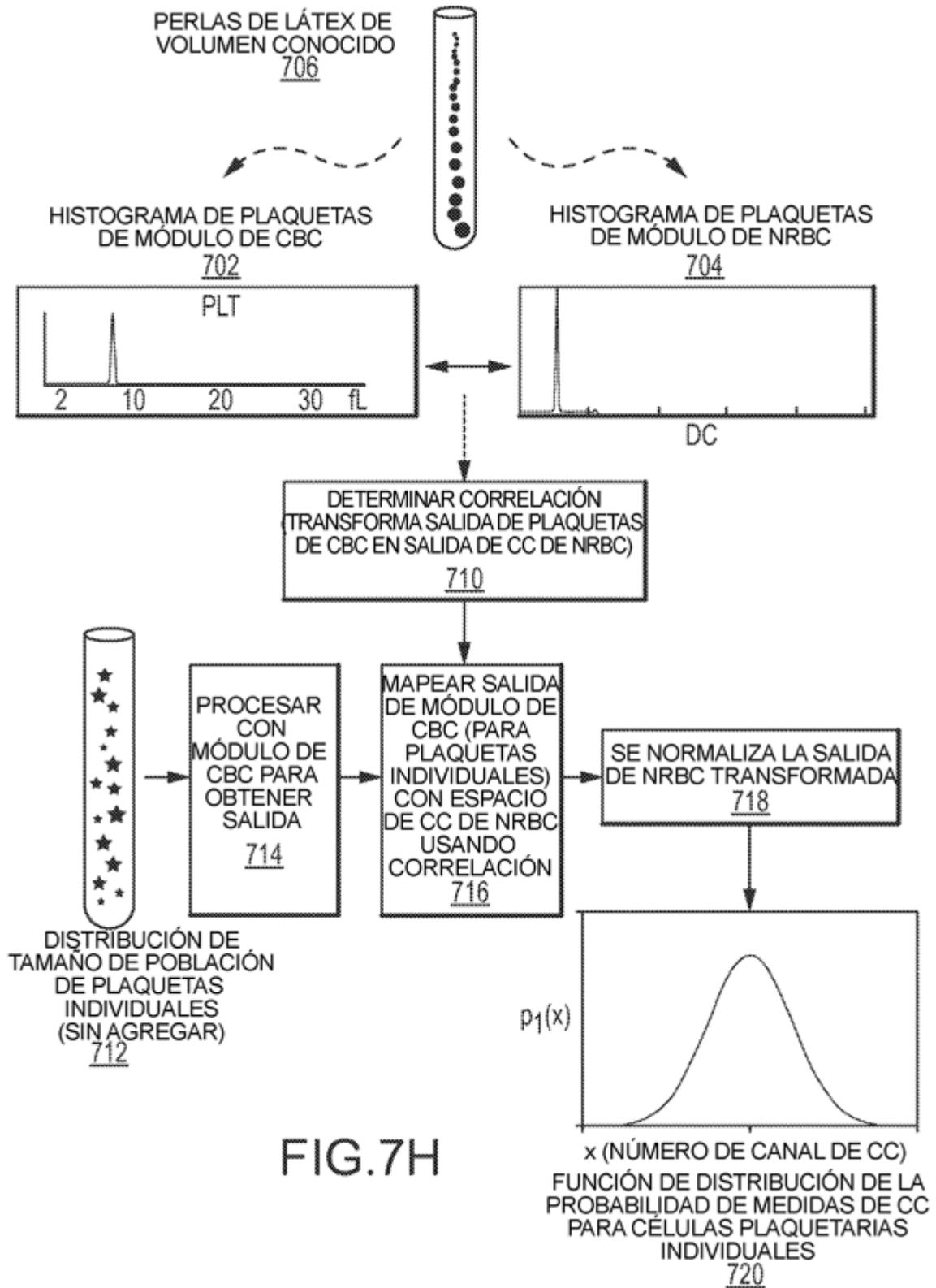


FIG.7H

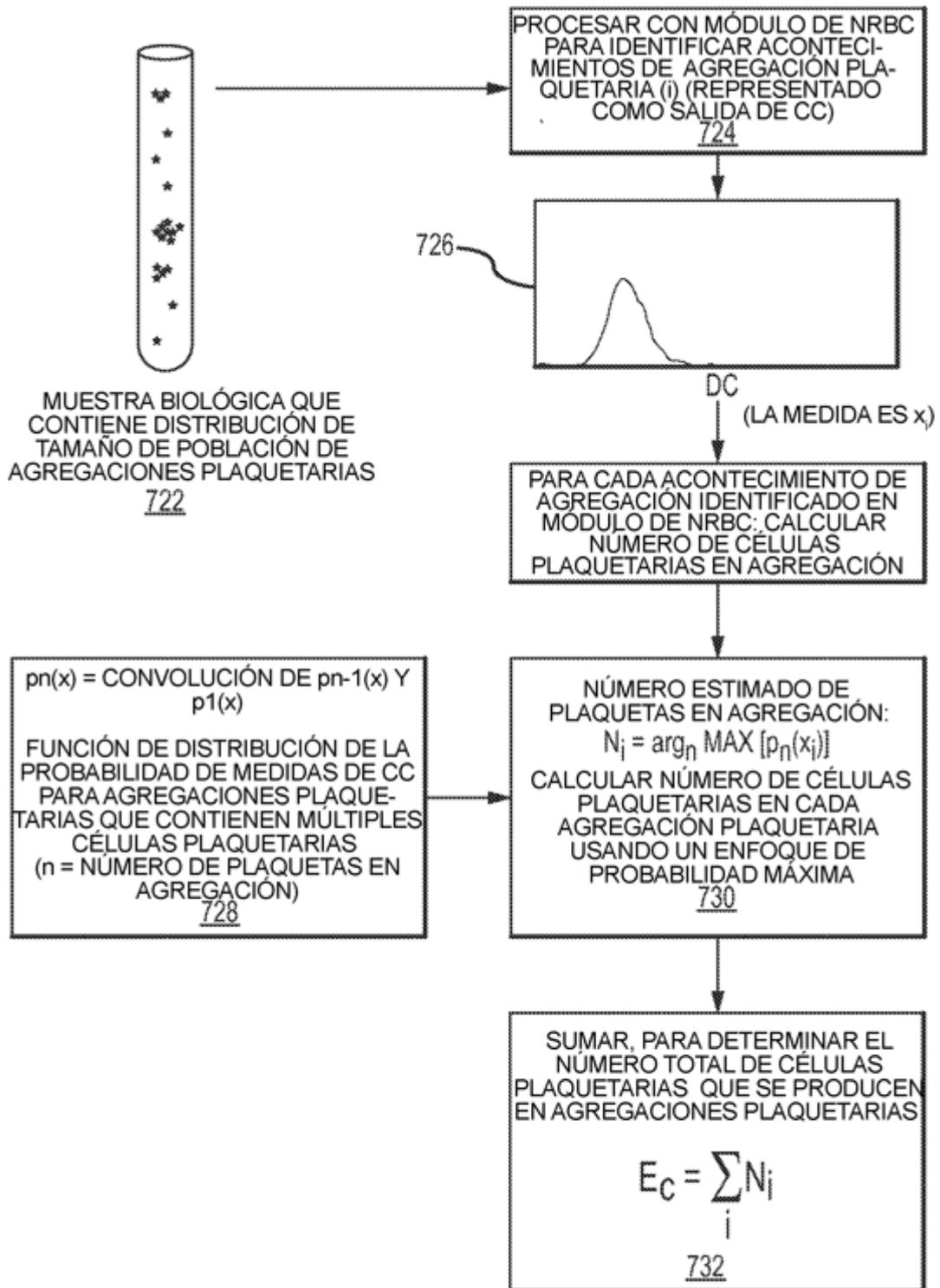


FIG.71

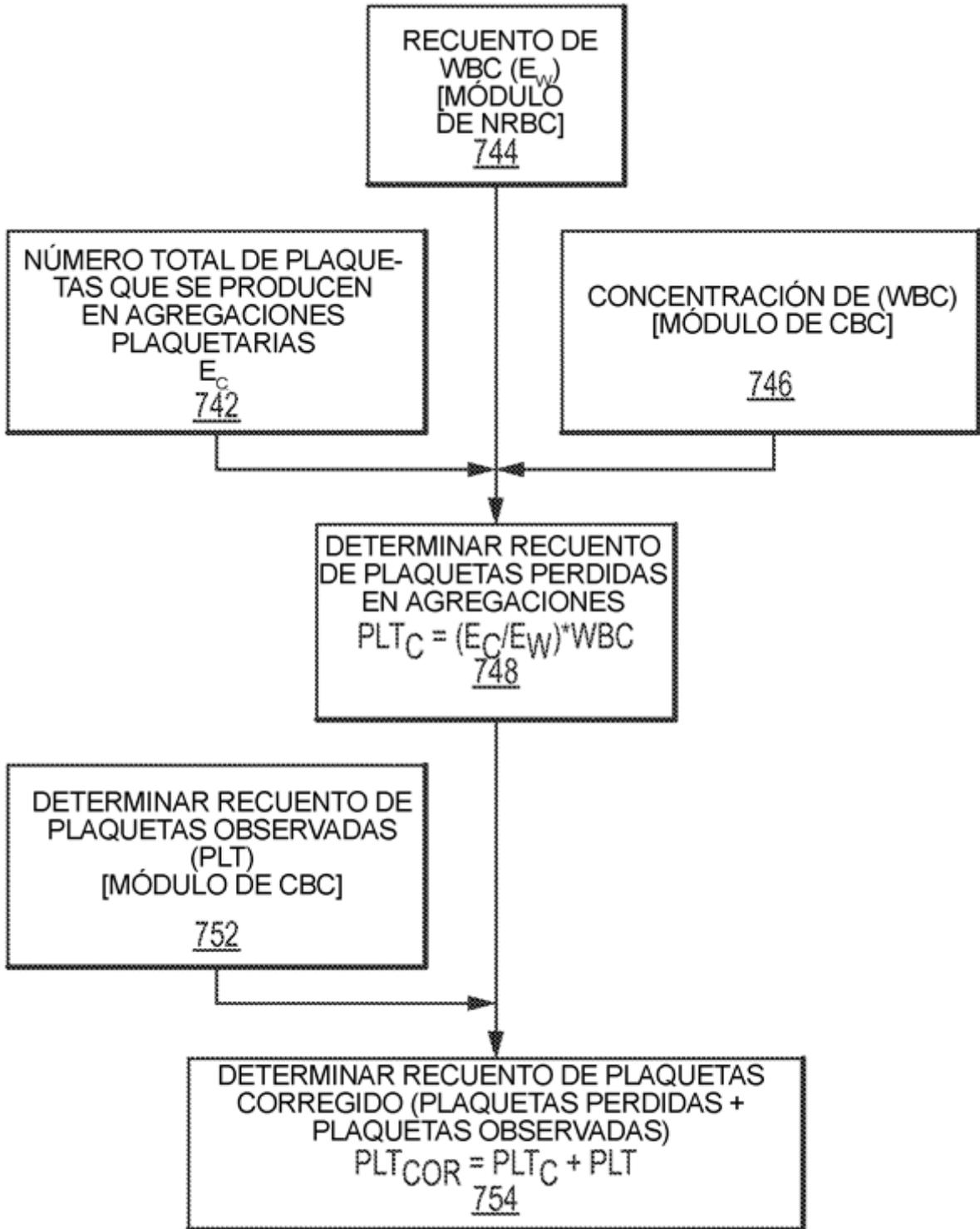


FIG.7J

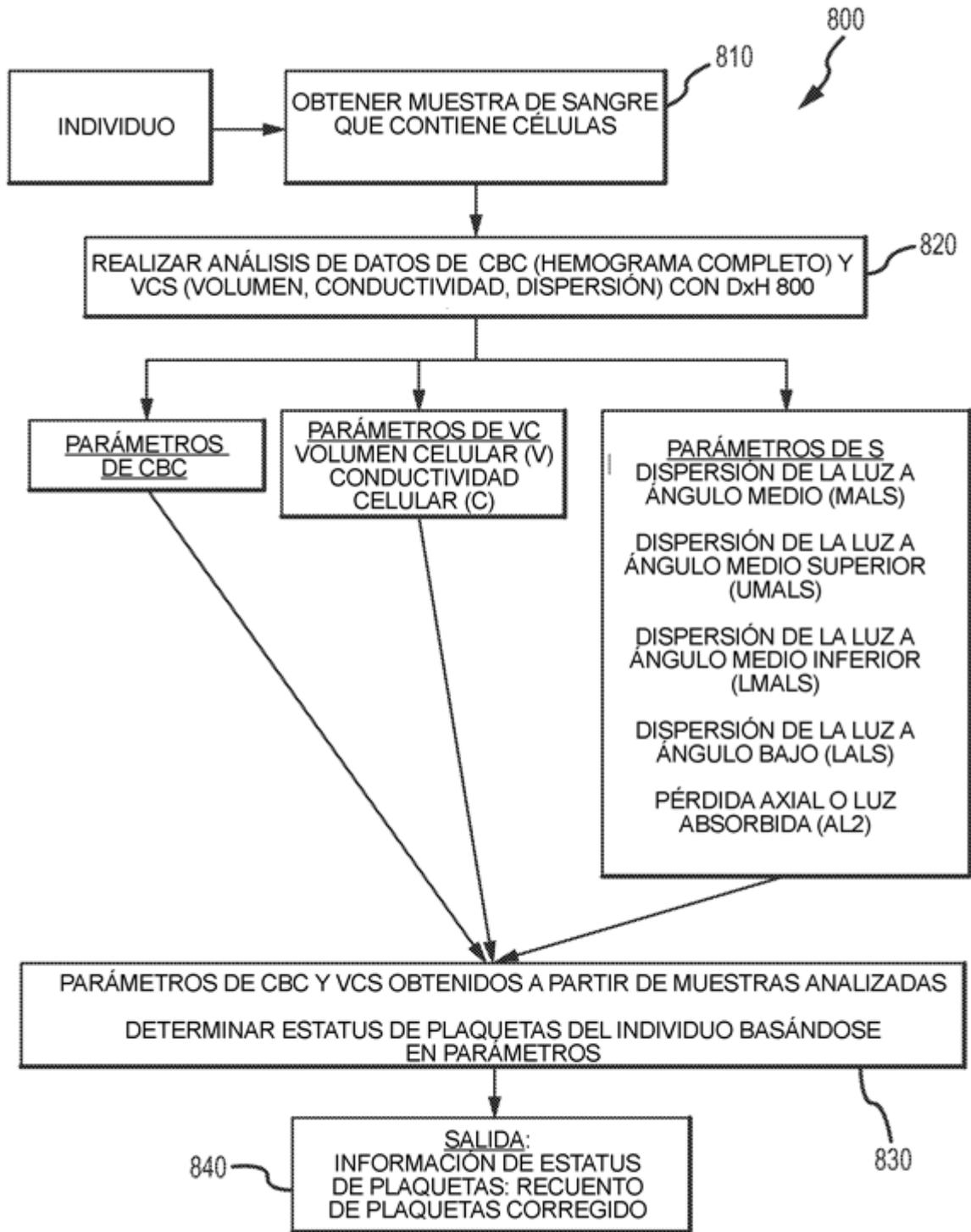


FIG.8

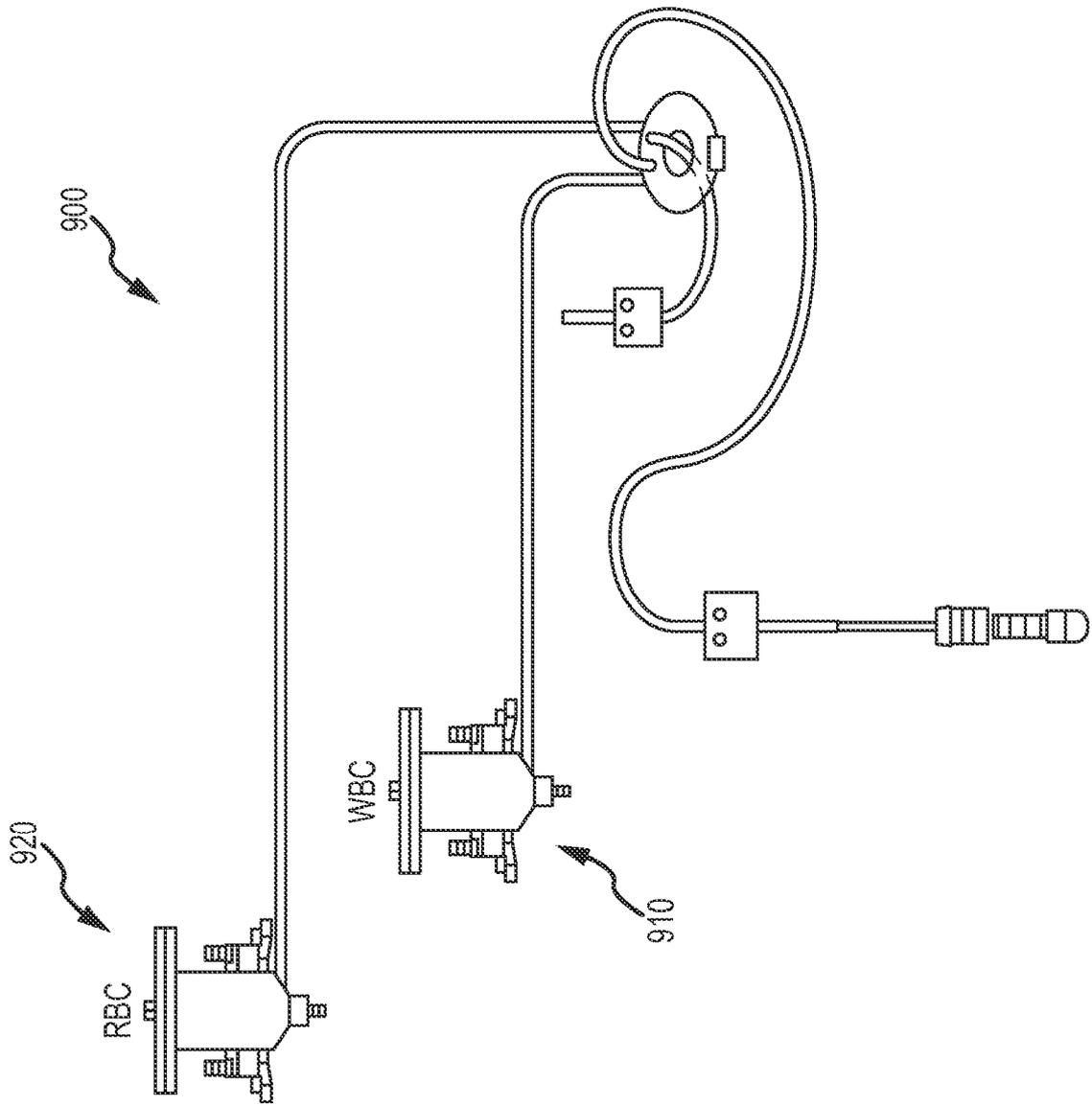


FIG.9

NRBC

1. SANGRE SUMINISTRADA A CÁMARA DE NRBC
2. LISIS DE NRBC INTRODUCIDA
3. MUESTRA TRANSPORTADA A CELDA DE FLUJO PARA SU ANÁLISIS
4. RESULTADO PRESENTADO

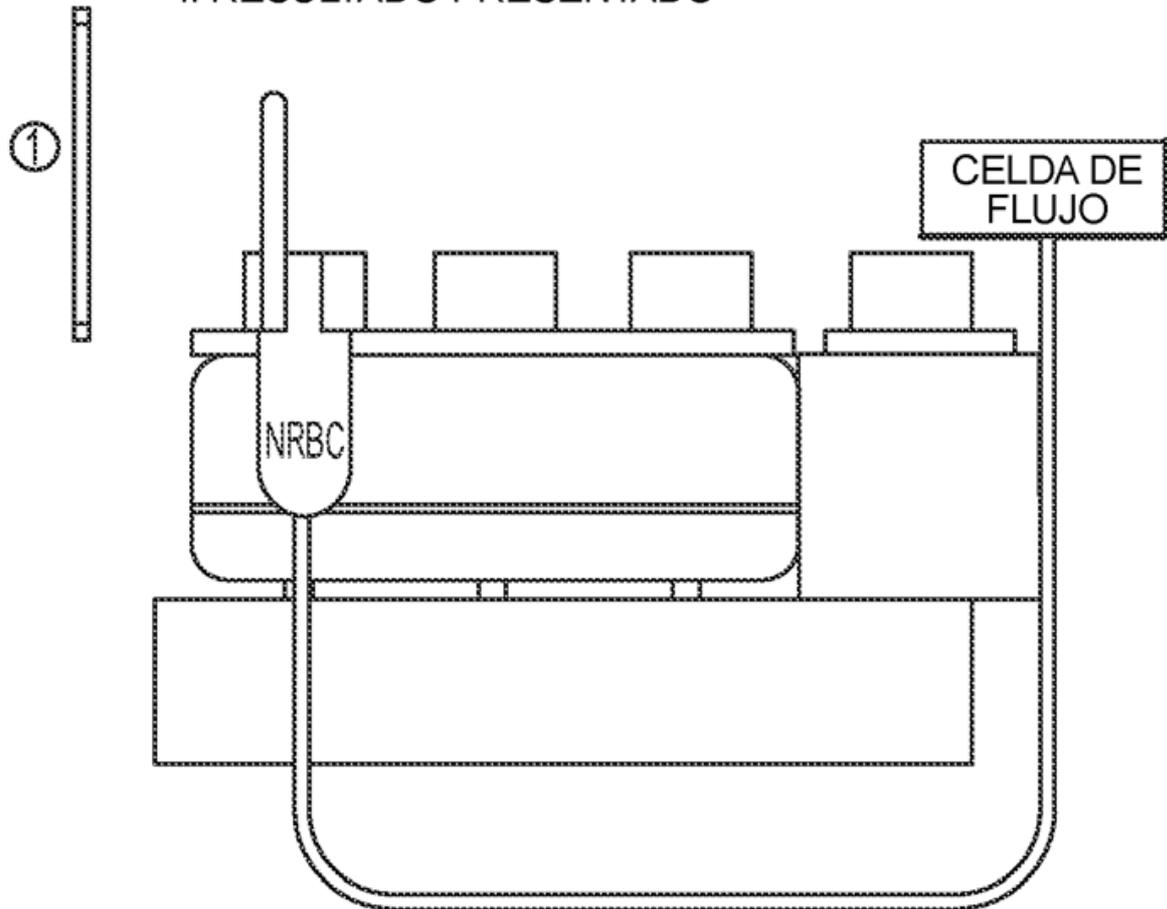


FIG.10A

CICLO DE NRBC

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----

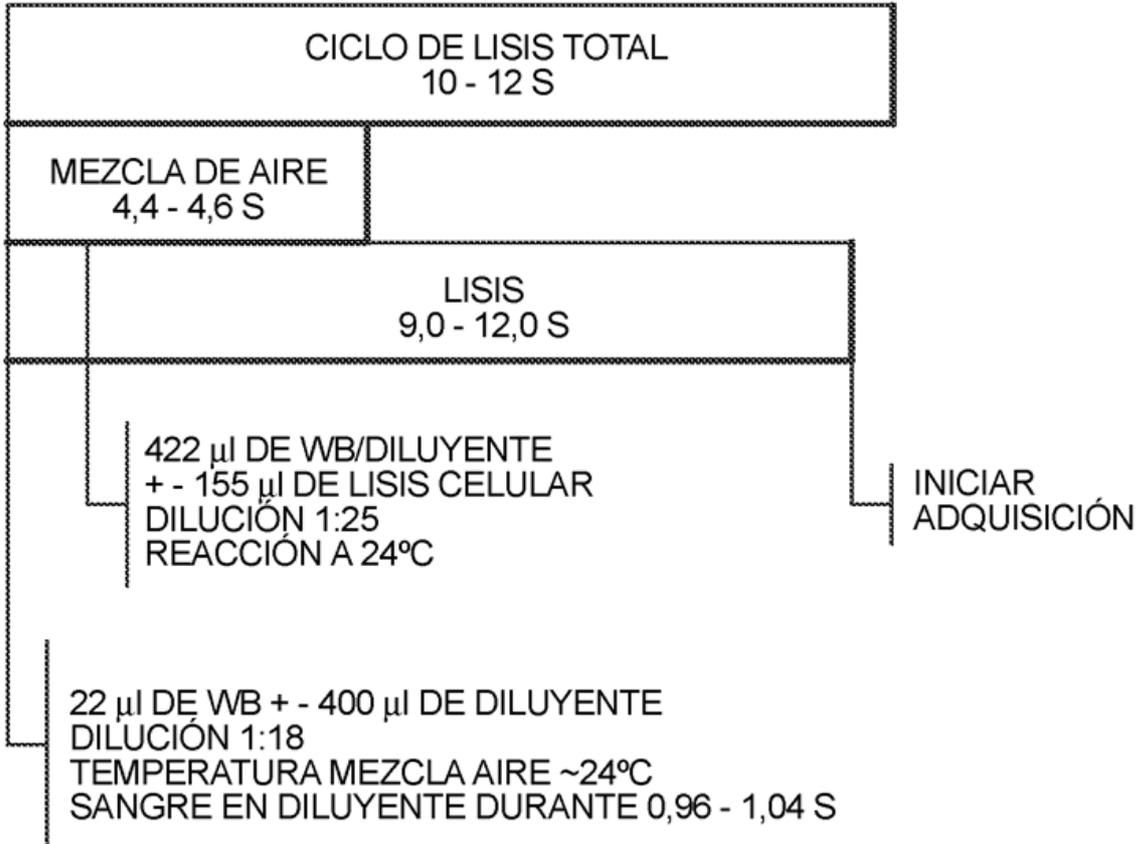


FIG.10B