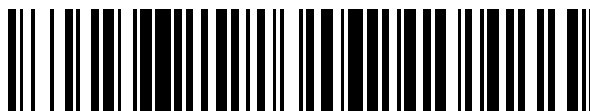


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 776 123**

51 Int. Cl.:

G01N 11/08 (2006.01)

G01N 35/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.04.2011 E 11162490 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2019 EP 2378265**

54 Título: **Método para estimar la viscosidad**

30 Prioridad:

14.04.2010 US 759809

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

29.07.2020

73 Titular/es:

**ORTHO-CLINICAL DIAGNOSTICS, INC. (100.0%)
1001 U.S. Route 202
Raritan, NJ 08869, US**

72 Inventor/es:

DING, ZHONG

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 776 123 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

Método para estimar la viscosidad

5 Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a la estimación de la viscosidad de un líquido en un sistema de medición, tal como un líquido transportado por un sistema de medición en un analizador de diagnóstico. En particular, la presente invención se refiere a la estimación de la viscosidad mediante mediciones de presión seleccionadas para determinar con mayor precisión una cantidad de fluido aspirado o dispensado.

En el campo del diagnóstico, existe una tendencia a utilizar cantidades cada vez más pequeñas de líquido en un análisis o ensayo de diagnóstico, como en un analizador de diagnóstico. Por lo tanto, el manejo preciso y exacto de pequeños volúmenes de fluido, por ejemplo, microlitros, es importante para el desempeño de un ensayo que se está realizando. El rendimiento de los sistemas de medición de líquidos disponibles, como los de los analizadores de diagnóstico, es sensible a las propiedades del líquido, como la viscosidad, en parte porque es más probable que un líquido de mayor viscosidad se adhiera a la superficie de una sonda de aspiración o la punta dosificadora de dicha sonda, y también conduce a la aspiración de menos líquido de lo previsto. La firma o perfil del gas, por ejemplo, aire, entre el mecanismo de bombeo y el líquido durante la medición es una función de la viscosidad del líquido. Un perfil de presión típico se muestra en la Figura 1.

Las técnicas de estimación de viscosidad conocidas para sistemas de medición, en analizadores de diagnóstico conocidos, generalmente funcionan solo para volúmenes de aspiración mayores de 35 μL . Dichos sistemas de medición se pueden usar en analizadores de diagnóstico conocidos como el analizador de diagnóstico Vitros 5600 y Vitros 3600 vendido por Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. y otros sistemas de analizador conocidos porque dicho analizador generalmente mide volúmenes de líquido que son mayores de 35 μL .

Por lo tanto, existe la necesidad de una estimación satisfactoria de la viscosidad del líquido cuando en un proceso de medición, como aspiración o dispensación de un líquido, están involucrados pequeños volúmenes de líquidos, por ejemplo, menos de 35 μL y mucho menos.

El documento US2009/266149A1 describe la diferenciación entre viscosidades de muestra anormales y la obstrucción de la pipeta durante la aspiración. El documento WO2004/001391A1 describe un método para medir la viscosidad del fluido y un dispositivo para llevar a cabo el método. El documento WO2006/066565A1 describe un método para determinar la viscosidad y un viscosímetro. El documento JP2003028886A describe un dispensador de líquido.

Resumen de la invención

40 La invención es como se define en la reivindicación independiente.

La presente invención se dirige a un método que resuelve los problemas anteriores de poder estimar la viscosidad a volúmenes de líquido relativamente pequeños, particularmente en el contexto de la medición de líquidos durante una operación de medición en un analizador de diagnóstico.

45 La invención proporciona un método de acuerdo con la reivindicación 1.

Opcionalmente, el método incluye: calcular una tasa de aumento de presión (R) = $\frac{P_{parada+3} - P_{parada}}{P_{parada} - P_{ref}}$, y estimar la viscosidad en función de R .

50 En la reivindicación 11, se proporciona un método para aspirar una cantidad seleccionada de líquido que comprende el método de la reivindicación 1. En una realización, la bomba es una bomba de pistón y en la que el pistón de la bomba de pistón se mueve una distancia predeterminada que corresponde a un volumen seleccionado del líquido a aspirar.

55 En la reivindicación 13, se proporciona un método para analizar una muestra para un analito, que comprende: proporcionar una fuente de una muestra; y aspirar una cantidad seleccionada de líquido como se reivindica en la reivindicación 11.

Objetos adicionales, características y ventajas de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración detallada de las realizaciones preferidas que siguen.

60 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un perfil de presión para una aspiración de muestra de sangre con micropunta de 2 μL con la presión que se muestra como recuentos A/D.

65 La Figura 2 muestra un gráfico de la tasa de aumento de presión (R) en función de la viscosidad para líquidos que tienen diferentes viscosidades.

La Figura 3 muestra una curva de velocidad de aumento de presión en función de la viscosidad usando el modelo de ajuste de curva logit/log4 para líquidos que tienen diferentes viscosidades.

La Figura 4 muestra dos curvas de velocidad de aumento de presión en función de la viscosidad utilizando el modelo de ajuste de curva logit/log4 (línea continua) y otra técnica de ajuste de curva (línea discontinua).

5 La Figura 5 muestra los perfiles de presión durante la aspiración de líquidos en función del tiempo para una aspiración de 7,5 µL con diferentes viscosidades.

Las Figuras 6a-d muestran la linealidad y el error para el modelo de calibración lineal (arriba) y el modelo de calibración logit/log4.

10 La Figura 7 muestra los perfiles de presión durante una aspiración de líquidos en función del tiempo para una aspiración de 11 µL con diferentes viscosidades.

La Figura 8 muestra la tasa de presión en función de la viscosidad para una aspiración de muestra líquida de 11 µL con líquidos que tienen diferentes viscosidades.

Las Figuras 9-15 son gráficos que muestran la linealidad de la viscosidad predicha frente a la viscosidad verdadera o real utilizando el modelo logit/log4 para diversas viscosidades.

15 Descripción detallada de realizaciones preferidas

Si bien las diversas aplicaciones para estimar la viscosidad de acuerdo con la invención no están limitadas, una aplicación particularmente útil es en el campo del análisis de diagnóstico. El rango de analizadores y metodologías que pueden usarse con la presente invención es amplio y se discute con más detalle a continuación.

20 Como se usa en la presente descripción, un "volumen pequeño" o "volumen relativamente pequeño" de líquido se define generalmente como $\leq 35 \mu\text{L}$, $\leq 25 \mu\text{L}$, $\leq 20 \mu\text{L}$, $\leq 10 \mu\text{L}$, $\leq 5 \mu\text{L}$ e incluso menos de $2 \mu\text{L}$ y particularmente volúmenes $\leq 20 \mu\text{L}$.

25 En la siguiente descripción de las realizaciones preferidas de la invención, se describe una bomba de pistón, sin embargo, otros mecanismos de bombeo tales como una bomba de diafragma pueden usarse con la presente invención.

30 Un aspecto de la presente invención usa mediciones de presión seleccionadas durante un evento de medición para estimar la viscosidad del líquido cuando el volumen del líquido aspirado es un volumen pequeño. Aunque no desea estar sujeto a ninguna teoría, la presente invención se basa en el descubrimiento de los inventores de que la estimación de la viscosidad se determinará basándose únicamente en la medición de la presión. El inventor, a través de la o las siguientes derivaciones, pudo demostrar que la viscosidad podía estimarse basándose en mediciones de presión solo en momentos seleccionados del evento de medición.

35 Esto se logra midiendo la presión relativa (definida a continuación) y estimando el caudal de fluido (Q) midiendo la tasa de cambio de presión en la parada de la bomba (definida a continuación). La presión relativa (DP) y caudal de fluido (Q) se utilizan para correlacionar la viscosidad del líquido.

40 Durante la aspiración de líquido, el pistón de una bomba de pistón se retira y la presión dentro de la punta disminuye debido a la viscosidad y la inercia del líquido aspirado (Figura 1). En el momento en que el pistón se detiene, se crea una presión más baja dentro de la punta. La diferencia de presión o presión relativa DP entre la presión ambiental y la presión dentro de la punta continúa impulsando el líquido que fluye hacia la punta después de que la bomba se detiene hasta que la presión alcanza el equilibrio.

45 La presión cuando la bomba se detiene (parada de la bomba) está relacionada con la viscosidad del líquido bombeado. Cuanto mayor es la viscosidad, menor es la presión, cuando otras condiciones permanecen iguales. El caudal de flujo (Q) del líquido en la parada de la bomba es proporcional a la diferencia de presión (DP) entre el interior de la punta y el ambiente (es decir, fuera de la punta) y es inversamente proporcional a la viscosidad del líquido. Cabe señalar que esta relación se aplica en todo momento, no solo en la parada de la bomba y la inercia del líquido es insignificante debido a la pequeña masa líquida involucrada.

50 En la parada de la bomba, el caudal de líquido (Q) es el mismo que la tasa de cambio de volumen de aire del aire dentro de la punta. La tasa de cambio de volumen de aire se puede determinar midiendo el cambio de presión de aire dentro de la punta. En una realización, la presión del aire se mide mediante el recuento A/D (analógico a digital) del sensor de presión en el sistema de medición. La tasa de conteo A/D de presión medida es proporcional a la diferencia entre la tasa del pistón y el caudal de líquido. Si la bomba se detiene, la tasa de cambio de presión medida es proporcional al caudal de líquido.

55 La presión relativa (DP) en la parada de la bomba entre el interior y el exterior de la punta (ambiente) puede calcularse mediante $DP = P_{\text{parada}} - P_{\text{ref}}$, donde P_{parada} es la presión cuando la bomba se detiene y P_{ref} es la presión ambiental antes de la aspiración. El caudal de líquido (Q) después de la parada de la bomba es proporcional a la diferencia de presión entre el interior y el exterior de la punta. Como se describió anteriormente, el caudal de flujo (Q) también es inversamente proporcional a la viscosidad del líquido. Por lo tanto, la viscosidad del líquido se puede estimar con una función $\mu = f(Q, DP)$.

60

Como se describió anteriormente, después de la parada de la bomba, el caudal de líquido en la punta es proporcional a la tasa de cambio de presión de aire, $Q = \alpha(P_2 - P_1)/(t_2 - t_1)$, donde P_1 es la presión en el tiempo t_1 y P_2 es la presión en t_2 y α es una constante.

5 En una realización preferida, las presiones en el momento en que la bomba se detiene y se seleccionan 3 índices de tiempo más adelante (descritos más detalladamente a continuación) para calcular el caudal de flujo con $Q = \beta(P_{parada+3} - P_{parada})$, donde β es un constante. La viscosidad del líquido se estima por

$$\mu = f(R)$$

10 Donde $R = \frac{P_{parada+3} - P_{parada}}{P_{parada} - P_{ref}}$.

En esta derivación, la viscosidad es una función del parámetro R . R se denomina tasa de aumento de presión y se calcula mediante los tres puntos de presión ($P_{parada+3}$, P_{parada} , P_{ref}) en la firma de presión durante la aspiración. La función f es un modelo de calibración seleccionado que genera un mejor ajuste para la relación entre el parámetro R y la viscosidad μ .

15 La Figura 1 muestra la firma de presión cuando se aspiran 2 μ L de sangre que tiene viscosidades similares pero diferentes representadas como presión en función del tiempo. Cuanto mayor sea la curva con respecto al recuento A/D, menor será la viscosidad. El valle en la Figura 1 corresponde a las paradas de la bomba (P_{parada}). La presión aumenta más lentamente para líquidos de mayor viscosidad, como se muestra particularmente en las tres (3) curvas más bajas.

20 La Figura 2 muestra la tasa de aumento de presión R (determinada por tres mediciones de presión) en función de la viscosidad μ para muestras de suero que tienen un rango de viscosidades.

25 El ajuste de curvas se puede llevar a cabo utilizando modelos conocidos como logit/log4. También se pueden usar otros modelos de calibración conocidos, como el modelo de ajuste de curva que se describe a continuación.

Logit/log4 se utiliza como modelo de calibración para correlacionar la viscosidad con la tasa de aumento de presión R . La Figura 3 muestra la curva de calibración Logit/Log4 con $\mu = \beta_0 + \frac{\beta_1}{1 + e^{-(\beta_2 + \beta_3 \ln R)}}$. La viscosidad se predice por $\mu = e^{\left\{ \frac{1}{\beta_3} [\beta_2 + \ln \left(\frac{\beta_1}{R - \beta_0} - 1 \right)] \right\}}$.

30 Las cuatro constantes β_0 , β_1 , β_2 , y β_3 para las muestras de suero de la Figura 3 son $\beta_0 = -0,1709$, $\beta_1 = 19,2872$, $\beta_2 = -3,3593$ y $\beta_3 = -0,4868$. Las constantes β_0 , β_1 , β_2 , y β_3 están determinadas por la tasa de aumento de presión R conocida y las viscosidades conocidas. Por lo tanto, cuando $R = 0,2$, la viscosidad estimada o predicha es 3,243 cps.

35 Otro modelo de ajuste de curva es $\mu = B0 + \frac{B1}{R + B2}$. Para los datos recopilados de sangre completa como se muestra en la Figura 4, el modelo ajustado se muestra como una curva discontinua con $B0 = -0,0508$, $B1 = 2,4206$, $B2 = -2,8811$. La curva sólida se trazó utilizando el modelo logit/log4 descrito anteriormente.

40 La Figura 5 representa una traza de presión en función del índice de tiempo para una aspiración de 7,5 μ L con diferentes viscosidades.

45 Las Figuras 6a-d representan la linealidad para el modelo de calibración lineal (arriba) y el modelo de calibración logit/log4 modelo. Las Figuras 6b y 6d muestran que a medida que aumenta la viscosidad disminuye el error relativo.

La Figura 7 muestra perfiles de presión para diferentes fluidos de viscosidad cuya viscosidad se determinó mediante un viscosímetro rotacional.

50 La Figura 8 muestra la viscosidad medida directamente desde un viscosímetro trazada contra la tasa de presión.

Las Figuras 9-15 muestran la linealidad de una viscosidad predicha determinada por el método de la invención usando el modelo Logit/log4 frente a la viscosidad determinada por un viscosímetro para diferentes volúmenes de líquido de hasta 20 μ L.

55 Como muestran las figuras, la correlación entre la medición de la viscosidad y el cálculo de la viscosidad de la presente invención es muy alta como se muestra por los coeficientes de correlación R^2 .

60 Por lo tanto, midiendo tres presiones diferentes, se puede calcular la tasa de aumento de presión R , que junto con un modelo de ajuste de curva tal como el logit/log4 o simplemente usando manualmente una curva de calibración, se puede estimar la viscosidad del líquido que se está midiendo.

En otra realización, las tres mediciones de presión pueden usarse para estimar también la viscosidad. El volumen de aire inicial dentro de la punta es V_0 y la presión inicial es la presión ambiental y es p_0 (también conocida como P_{ref} como se

describió anteriormente). Cuando la punta se introduce en el líquido, el líquido puede entrar a la punta debido a la presión capilar y la gravedad. Como resultado, V_0 puede cambiar a V_1 y p_0 puede cambiar a p_1 . Sin embargo, el producto $p_1 V_1^\gamma = p_0 V_0^\gamma$ permanece constante de acuerdo con la ley de los gases ideales. Después de que la bomba se detiene, el caudal de flujo de líquido Q dentro o fuera de la punta es la misma que la tasa de cambio de volumen de aire dentro de la punta como se describió anteriormente. Por lo tanto, como también se describió anteriormente, la tasa de cambio de volumen de aire dentro de la punta se puede usar para determinar el caudal de líquido. Se asigna un valor positivo al caudal cuando el fluido sale de la punta y se asigna un valor negativo al caudal cuando el fluido fluye hacia la punta. El caudal de líquido $Q(t)$ está relacionado con el cambio de volumen de aire $\Delta V(t) = V(t) - V_1$ por

$$10 \quad Q(t) = \frac{d(\Delta V)}{dt}. \quad (1)$$

La presión de aire dentro de la punta es $p(t)$ y es una función del tiempo. La diferencia de presión entre la punta en el interior y el ambiente es $\Delta p(t) = p(t) - p_0$. El caudal de líquido, la diferencia de presión y la viscosidad del líquido m están relacionados por $Q(t) \sim \frac{\Delta p(t)}{\mu}$ o

$$15 \quad Q(t) = \beta \frac{\Delta p(t)}{\mu}, \quad (2)$$

donde la constante β es un número positivo debido a los efectos geométricos del flujo.

20 A partir de las ecuaciones (1) y (2), se puede obtener la siguiente relación,

$$Q(t) = \frac{dV(t)}{dt} = \beta \frac{\Delta p(t)}{\mu}. \quad (3)$$

En un sistema de medición típico, el cambio de presión y volumen de aire es relativamente pequeño. La ley de gas ideal adiabático se utiliza para relacionar el volumen de aire y la presión mediante el cambio por $pV^\gamma = p_0 V_0^\gamma$. El cambio de volumen se relaciona con el cambio de presión por

$$30 \quad \Delta V = -\frac{V}{\gamma p} \Delta p = -\frac{V_0}{\gamma p} \left(\frac{p_0}{p}\right)^{\frac{1}{\gamma}} \Delta p \approx -\frac{V_0}{\gamma p} \Delta p. \quad (4)$$

Por lo tanto

$$35 \quad \frac{V_0}{\gamma p_0} \frac{dp(t)}{dt} = -\beta \frac{p(t) - p_0}{\mu}. \quad (5)$$

La ecuación anterior (5) se puede reorganizar para obtener

$$\frac{dp(t)}{p(t) - p_0} = -\frac{\gamma p_0 \beta}{V_0} \frac{dt}{\mu}. \quad (6)$$

40 Al integrar la ecuación anterior (6), el resultado es

$$\ln[p(t) - p_0] = -\frac{\gamma p_0 \beta}{V_0} \frac{dt}{\mu} - C. \quad (7)$$

La presión del aire en función del tiempo se puede escribir en forma de

$$45 \quad p(t) = A e^{-\frac{\beta \gamma p_0}{V_0 \mu} t} + B. \quad (8)$$

Cuando $t \rightarrow \infty$, la presión se acerca a la del ambiente y el flujo de fluido se detiene. Por lo tanto, $B = P_0 = 0$. Por lo tanto, la presión dentro del sistema está relacionada con la viscosidad en función del tiempo por

$$50 \quad p(t) = A e^{-\frac{\beta \gamma p_0}{V_0 \mu} t} = A e^{\frac{k}{\mu} t}. \quad (9)$$

Donde $k = -\frac{\beta \gamma p_0}{V_0}$.

55 Dejar $\bar{p}(t) = p(t) - p_0$. Tomando derivada de la ecuación anterior, los resultados son:

$$\bar{p} = \frac{d\bar{p}(t)}{dt} = \frac{k}{\mu} \bar{p}. \quad (10)$$

La viscosidad μ está relacionada con la relación entre la presión relativa \bar{p} y la tasa de presión $\dot{\bar{p}}$ por

$$60 \quad \mu = k \frac{\bar{p}}{\dot{\bar{p}}} \quad (11)$$

La ecuación anterior se puede escribir en la forma

$$\frac{1}{\mu} = k \frac{\dot{p}}{\bar{p}} \quad (12)$$

5 Las constantes K y k están relacionadas con la geometría, la presión de aire inicial y el volumen dentro de la punta. Las dos constantes están relacionadas por $K = 1/k$. Estas constantes pueden determinarse construyendo una curva de calibración usando fluidos que tengan viscosidades conocidas y determinando la diferencia de presión relativa (\bar{p}) y la tasa de cambio de presión (\dot{p}) a partir de las tres mediciones de presión descritas anteriormente.

10 Si el tiempo en que la bomba se detiene se establece como $t = 0$, la presión dentro de la punta es la presión cuando el pistón se detiene, p_s . En estas condiciones, la constante A en la ecuación (9) es la presión de aire dentro de la punta en la parada de la bomba y $A = p_s$. Nuevamente, la viscosidad se puede estimar mediante tres mediciones de presión, P_{ref} , P_{parada} , $P_{parada+1}$.

15 La viscosidad se puede obtener usando la ecuación (11) o (12) con una función lineal como la curva de calibración. Para la ecuación (12), el recíproco de viscosidad ($1/\mu$) se calcula a partir de la curva lineal, y luego la viscosidad (μ) se calcula con el recíproco.

A partir de la descripción anterior, se hace evidente que las ventajas de la presente invención incluyen:

- 20 1. Estimación de la viscosidad con un pequeño volumen de aspiración o dispensación de líquido midiendo solo tres puntos de presión en la firma de presión durante la aspiración o dispensación.
2. El algoritmo utilizado en la presente invención es relativamente simple de implementar, particularmente porque la presión es la única propiedad medida.
- 25 3. La invención ayuda a establecer umbrales de detección de errores para reducir las tasas de detección falsas, particularmente en ensayos de diagnóstico. Por ejemplo, si una viscosidad estimada es alta, entonces el umbral para una notificación de punta obstruida puede establecerse más alto, porque en un umbral más bajo el cambio de presión probablemente se deba al líquido de mayor viscosidad en lugar de una punta obstruida. Del mismo modo, si la viscosidad estimada es baja, entonces el umbral para la notificación de punta obstruida puede fijarse más bajo.
- 30 4. Resultados mejorados para el proceso en el que se está utilizando el evento de medición. En un caso, la precisión y exactitud mejorada en la cantidad de fluido que se mide se realiza en base al conocimiento, mediante la estimación del presente método, de la viscosidad del fluido. Por ejemplo, en el caso de un líquido de alta viscosidad, la bomba dosificadora para una sonda de medición se puede configurar para una aspiración en exceso para aspirar la cantidad correcta de líquido. Alternativamente, la viscosidad estimada puede usarse para alertar a un operador de que los resultados del proceso, como un ensayo de diagnóstico, pueden ser incorrectos a la vista de la viscosidad del líquido que está fuera del rango normal.

35 El método de estimación de la viscosidad de la presente invención se puede llevar a cabo en equipos de medición convencionales, tales como los sistemas descritos en las patentes de Estados Unidos N.ºs 6,484,556; 6,060,320; 5,750,881; y 5,540,081. El único requisito es la capacidad de medir la presión en el espacio entre el líquido que se aspira y el mecanismo de bombeo para el equipo de medición. Esto generalmente se logra usando un transductor de presión ubicado entre la punta de una sonda de aspiración/dispensación y la bomba.

40 En un método de acuerdo con una realización preferida, se mide la presión dentro de la punta dosificadora de la sonda de aspiración o dispensación. Esto proporciona la presión de referencia (P_{ref}) o (\bar{p}), una de las tres mediciones de presión de la presente invención. El mecanismo de bombeo se acciona entonces durante una cantidad de tiempo o distancia preseleccionada, ya sea en modo aspiración o dispensación. Después de la cantidad de tiempo o distancia preseleccionada, la bomba se detiene. En o aproximadamente en el momento en que la bomba (t) se detiene, el transductor de presión mide una vez más la presión del aire entre el líquido y la bomba (P_{parada}). Cabe señalar que, en muchos casos, la presión se mide continuamente o a intervalos de tiempo discretos (índices de tiempo) durante todo el proceso de medición. Ver, por ejemplo, el perfil de presión en la Figura 1. En tales casos, la presión P_{parada} se medirá junto con las otras mediciones de presión. La presión en la parada de la bomba es la segunda de las mediciones de presión utilizadas para estimar la viscosidad según la presente invención.

45 Después de un período de tiempo establecido, la presión se mide nuevamente. Esta medición de presión es la tercera de las tres mediciones de presión utilizadas para estimar la viscosidad según la presente invención. El momento en que se toma la tercera medición de presión puede ser en cualquier momento (t') después de la parada de la bomba y antes de que el flujo de líquido dentro o fuera de la punta se haya equilibrado (P_{parada}). En una realización preferida, la presión se mide un número establecido de índices de tiempo después de la parada de la bomba. Preferiblemente, la presión se mide 3 índices de tiempo después de la parada de la bomba ($P_{parada+3}$). Un índice de tiempo es el tiempo entre mediciones de presión automatizadas por el transductor de presión durante un evento de medición. En una realización, un índice de tiempo único es de 5 milisegundos. Estas son las únicas medidas requeridas para estimar la viscosidad de acuerdo con la presente invención.

50 Un algoritmo de ordenador en un ordenador asociado con el dispositivo de medición se puede usar para estimar la viscosidad del líquido en base a las tres mediciones de presión. Usando la primera realización descrita anteriormente, la tasa de aumento de presión R se determina a partir de las tres mediciones de presión (R) = $\frac{P_{parada+3} - P_{parada}}{P_{parada} - P_{ref}}$. Una curva

de calibración preparada previamente para el fluido que se está midiendo se puede usar con un modelo de calibración como logit/log4 y R para calcular un estimado viscosidad usando la ecuación $\mu = e^{\left\{\frac{1}{\beta_3}[\beta_2 + \ln\left(\frac{\beta_1}{R-\beta_0}-1\right)]\right\}}$ descrita anteriormente, o un modelo de calibración lineal puede usarse para estimar la viscosidad usando una ecuación $\mu = B0 + \frac{B1}{R+B2}$ descrita anteriormente.

Usando la segunda realización descrita anteriormente, la presión relativa \bar{p} se calcula en base a la diferencia entre P_{parada} y P_{ref} . La tasa de cambio de presión $\dot{\bar{p}}$ en la parada de la bomba se calcula mediante $\dot{\bar{p}} = (p_{parada} - p_{parada}) / (t' - t)$. La viscosidad se estima usando la presión relativa, la tasa de cambio de presión y una curva de calibración preparada previamente para el fluido que se mide mediante la relación $\mu = k \frac{\dot{\bar{p}}}{\bar{p}}$.

Alternativamente, un usuario puede usar manualmente una curva de calibración graficada manualmente en papel de la tasa de cambio o aumento de presión frente a la viscosidad conocida para llegar a una viscosidad estimada usando la tasa calculada de cambio o aumento de presión a partir de las presiones medidas para el líquido particular que se estima.

En una realización preferida, el método de estimación de la viscosidad de acuerdo con la presente invención puede usarse cuando un líquido es aspirado por una sonda de medición, tal como una sonda en un analizador de diagnóstico. El método incluye proporcionar una sonda de aspiración. La sonda tiene una punta de sonda y una bomba, que están en comunicación de fluidos, generalmente a través de tubos. Un transductor de presión está ubicado de tal manera que puede medir la presión del gas, generalmente aire, que está por encima de la punta de la sonda durante el proceso de aspiración. El transductor de presión generalmente se encuentra entre la punta de la sonda y el mecanismo de la bomba.

La presión de gas inicial se mide en la punta de la sonda de aspiración antes de que el líquido entre al líquido a aspirar. Esto se puede hacer antes de que la punta de la sonda se introduzca en el líquido o después de que la punta de la sonda entre al líquido, pero antes de que se accione la bomba.

La punta de la sonda se mueve hacia el líquido generalmente por medio de un mecanismo de transporte de la sonda, por ejemplo, un mecanismo de cremallera y piñón o un accionador hidráulico. Esto da como resultado un volumen de gas ubicado entre la parte superior del líquido y el mecanismo de bombeo, como el pistón de la bomba de pistón. La bomba se acciona en una cantidad que corresponde a un volumen seleccionado de líquido. Por ejemplo, el pistón de una bomba de pistón se mueve una distancia predeterminada que corresponde a un volumen seleccionado de líquido a aspirar.

La presión de gas en el volumen de gas se mide cuando la bomba se detiene y poco tiempo después para proporcionar una medición de presión en la parada de la bomba y la parada de la bomba más un tiempo predeterminado. Las mediciones de presión se usan luego para estimar la viscosidad de acuerdo con la presente invención. En una realización preferida, el líquido es una muestra de fluido corporal, tal como sangre completa, plasma, suero, orina o saliva. En otra realización, el líquido es uno o más de un reactivo, fluido de lavado, fluido de calibración o fluido de control, como los utilizados en analizadores de diagnóstico. La viscosidad estimada se puede usar en otra parte del proceso.

Como se discutió anteriormente, una aplicación de la técnica de estimación de viscosidad de la presente invención es en un analizador de diagnóstico para analizar la cantidad de analito en una muestra, tal como una muestra biológica. Los analizadores de diagnóstico automatizados son un accesorio en el laboratorio clínico. La gama de analizadores y metodologías en uso es amplia. Algunos ejemplos incluyen ensayos de absorbancia espectrofotométrica, como análisis de reacción de punto final y análisis de velocidad de reacción, ensayos turbidimétricos, ensayos nefelométricos, ensayos de atenuación de energía radiactiva (como los descritos en las patentes de los Estados Unidos Nos. 4,496,293 y 4,743,561), ensayos de captura de iones, ensayos colorimétricos, ensayos fluorométricos, sistemas de detección electroquímica, sistemas de detección potenciométrica e inmunoensayos. Algunas o todas estas técnicas pueden realizarse con productos químicos húmedos clásicos que utilizan una cubeta; análisis de electrodos específicos de iones (ISE); química de portaobjetos "secos" con formato de película delgada; formatos de tubos y microesferas o placas de microtitulación; y el uso de partículas magnéticas. La patente de Estados Unidos N.º 5,885,530 proporciona una descripción útil para comprender el funcionamiento de un analizador automático típico para realizar inmunoensayos en un formato de tubo y microesferas. Otros analizadores de diagnóstico típicos incluyen los descritos en las patentes de Estados Unidos N.ºs 7,402,282, 7,312,084 y 7,250,303.

En una operación de un analizador de diagnóstico típico, la muestra se aspira como se describió anteriormente. La muestra se dispensa luego en un portamuestras. El portamuestras puede incluir los conocidos en la técnica como se describió anteriormente. Se prefieren particularmente los portaobjetos secos, las cubetas y los pocillos recubiertos con estreptavidina. Una aplicación particularmente preferida de la presente invención es aspirar un líquido de muestra desde una punta de dosificación más grande que se ha sellado previamente en el fondo, mientras que la muestra está presente en la punta. Este tipo de puntas selladas se denomina Cuvetip™ vendido por Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. y se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos N.º 6,797,518 y en la solicitud de patente publicada de Estados Unidos N.º 2003-0022380 A1 publicada el 30 de enero de 2003. Dependiendo del sistema utilizado, se pueden agregar varios reactivos. La muestra con reactivos puede incubarse durante un período de tiempo seleccionado y luego tomarse una medición. Por ejemplo, en los analizadores de química, el análisis puede ser un análisis colorimétrico que utiliza un fotómetro que funciona a una longitud de onda específica. En inmunoensayos, el análisis se puede realizar por

5 quimioluminiscencia, midiendo la luz emitida por un luminómetro o por fluorescencia. Tales sistemas de medición, per se, son bien conocidos en la técnica. Como se describió anteriormente, la estimación de la viscosidad de acuerdo con la presente invención puede usarse para compensar la viscosidad del instrumento de diagnóstico para mejorar la precisión y exactitud, tal como ajustando el desplazamiento de la bomba; o la estimación de viscosidad se puede usar para notificar a un operador o indicar una alerta de que una medición de viscosidad está fuera de un valor o rango predeterminado y cualquier resultado debe considerarse en consecuencia.

10 Será evidente para los expertos en la técnica que se pueden realizar diversas modificaciones y variaciones a los compuestos, composiciones y procesos de esta invención. Por lo tanto, se pretende que la presente invención cubra tales modificaciones y variaciones, siempre que entren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para estimar la viscosidad de un líquido en una sonda de aspiración o dispensación, la sonda comprende una punta dosificadora y un mecanismo de bombeo, el método comprende:
 5 medir una presión de referencia que es la presión del aire dentro de la punta dosificadora entre el líquido y el mecanismo de bombeo de la sonda cuando no se produce dispensación o aspiración del líquido (P_{ref});
 dispensar o aspirar el líquido;
 detener la aspiración o dispensación del líquido;
 10 medir la presión (P_{parada}) del aire dentro de la punta en un momento (t) que es el momento en que se detiene la aspiración o dispensación del líquido; y
 medir la presión ($P_{parada'}$) del aire dentro de la punta en un momento (t') después de t , **caracterizado por**:
 calcular una diferencia de presión relativa (\bar{p}) que es la diferencia entre P_{parada} y P_{ref} ;
 calcular la tasa de cambio de presión ($\dot{\bar{p}}$) en P_{parada} por $\dot{\bar{p}} = (p_{parada'} - p_{parada}) / (t' - t)$; y
 15 estimar la viscosidad del líquido como una función de \bar{p} y $\dot{\bar{p}}$.
2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que P_{ref} es la presión ambiental o P_{ref} es la presión cuando la punta está en el fluido y se ve afectada por la gravedad y las fuerzas capilares.
3. Un método de acuerdo con la reivindicación 2, en el que P_{ref} es sustancialmente la misma cuando P_{ref} se determina por la presión ambiente o la presión cuando el fluido está dentro de la punta.
4. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la estimación comprende además usar la ecuación:

$$\mu = K \frac{\bar{p}}{\dot{\bar{p}}}$$
 en donde μ es viscosidad.
- 25 5. Método según la reivindicación 4, en el que K es predeterminado por un
6. Método según la reivindicación 1, en el que t' se mide 15 milisegundos después de t .
7. Un método según la reivindicación 1, en el que la cantidad de líquido que se aspira o dispensa es menor que/igual a $\leq 10 \mu\text{L}$, menor que/igual a $\leq 5 \mu\text{L}$, o menor que/igual a $\leq 2 \mu\text{L}$.
- 30 8. Un método según la reivindicación 1, en el que el líquido es una muestra de fluido corporal.
9. Un método según la reivindicación 8, en el que el fluido corporal es uno o más de sangre completa, plasma, suero, orina o saliva.
- 35 10. Método según la reivindicación 1, en el que el líquido es uno o más de un reactivo, fluido de lavado, fluido de calibración o fluido de control.
- 40 11. Un método para aspirar una cantidad seleccionada de líquido que comprende el método de la reivindicación 1 y que además comprende:
 proporcionar una sonda de aspiración que comprende una punta de la sonda y una bomba, en la que la punta de la sonda y la bomba están en comunicación de fluidos; y
 45 compensar la viscosidad notificando a un operador si la viscosidad estimada está fuera de un rango predeterminado, o ajustar el accionamiento de la bomba en función de la viscosidad estimada; y
 en el que la etapa de dispensar o aspirar un líquido que tiene un volumen de aire entre el líquido y el mecanismo de bombeo de la sonda comprende;
 mover la punta hacia el líquido, por lo que se encuentra un volumen de gas entre la parte superior del líquido y la bomba, en el que la presión de referencia se mide antes o después de que la punta entre en el líquido; y
 50 accionar la bomba por una duración o distancia que corresponde a un volumen seleccionado de líquido a aspirar.
12. Un método para aspirar una cantidad seleccionada de líquido según la reivindicación 11, en el que la bomba es una bomba de pistón y en el que el pistón de la bomba de pistón se mueve una distancia predeterminada que corresponde a un volumen seleccionado de líquido a aspirar.
- 55 13. Un método para analizar una muestra para un analito, que comprende:
 proporcionar una fuente de una muestra; y
 aspirar una cantidad seleccionada de líquido como se reivindica en la reivindicación 11.

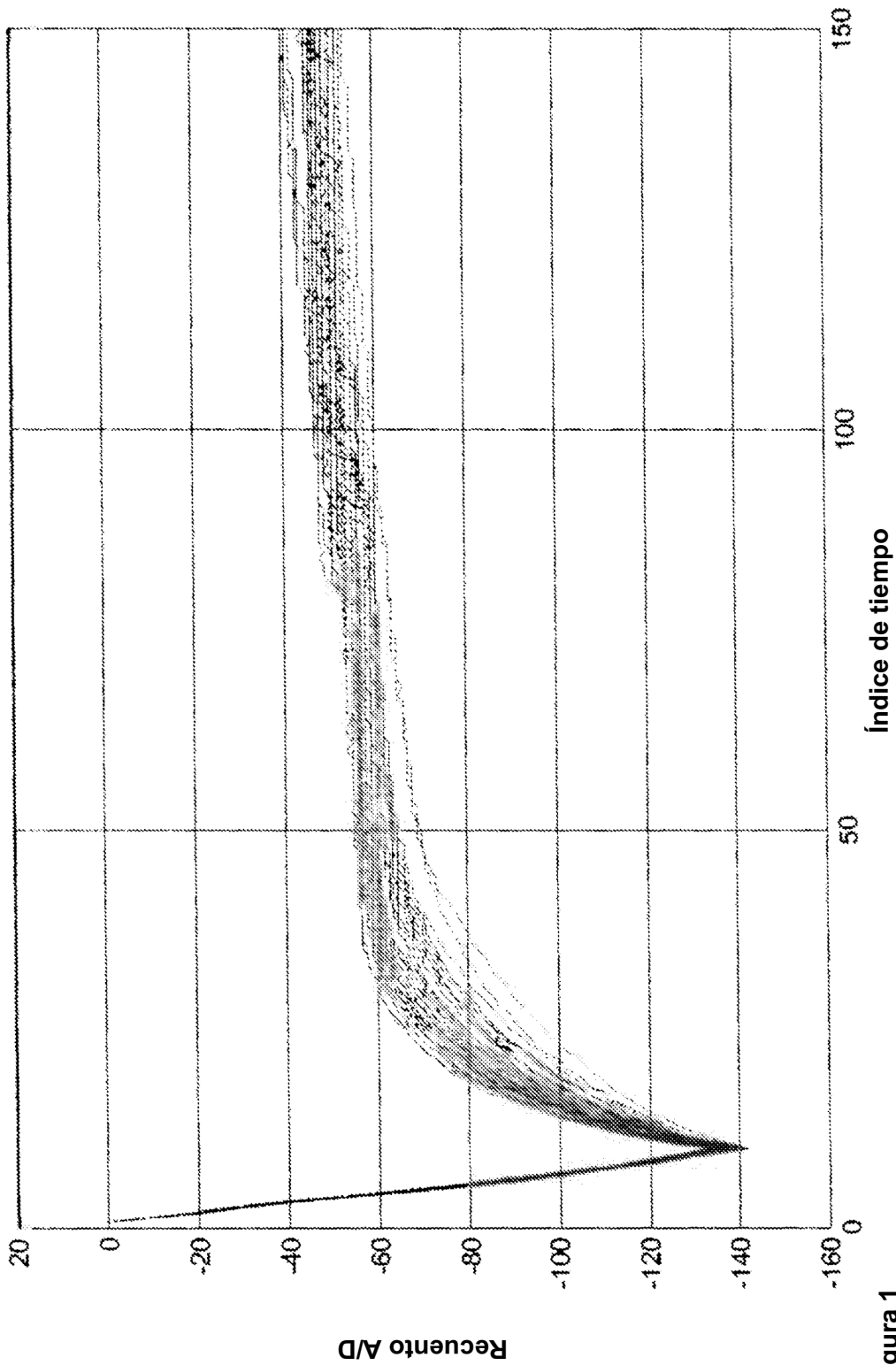


Figura 1

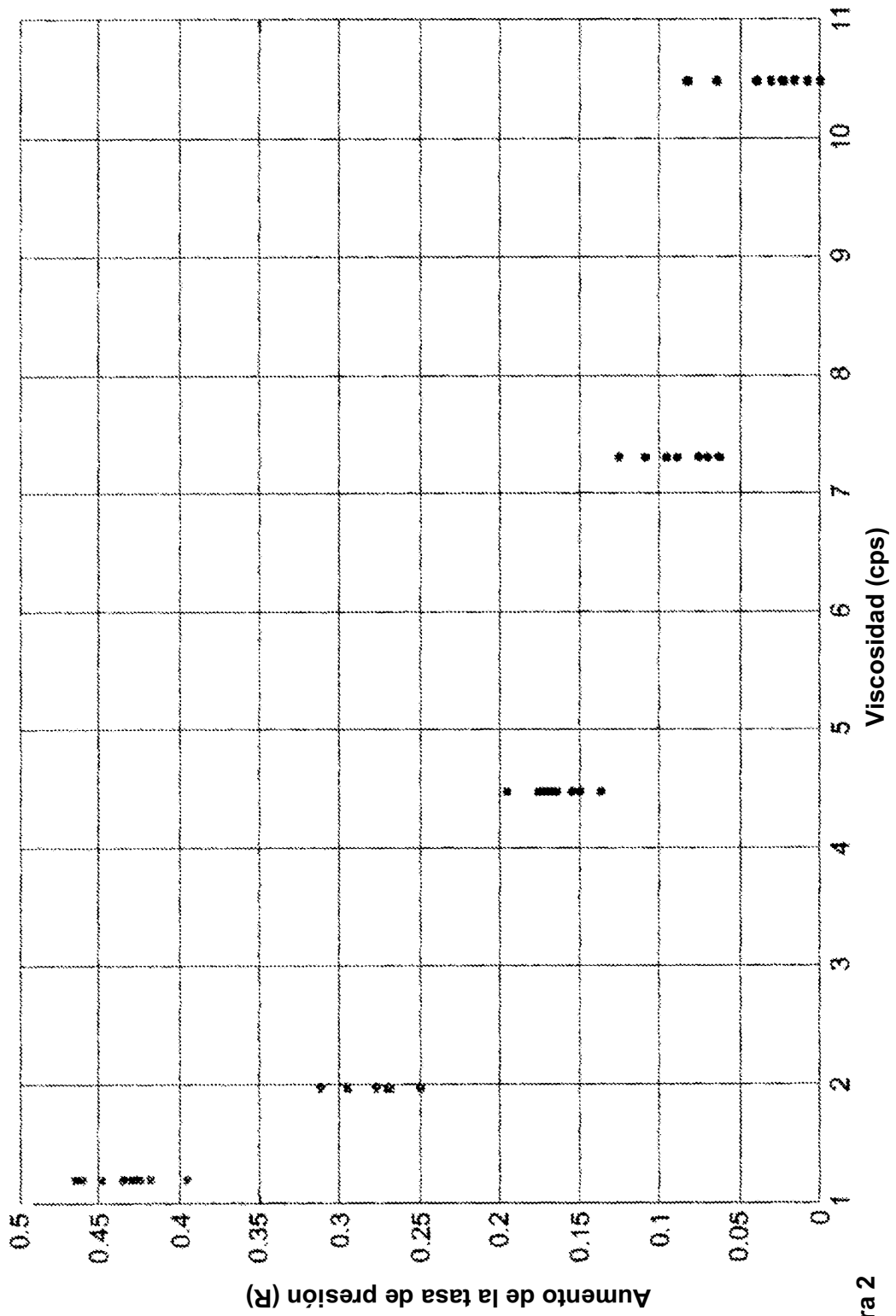


Figura 2

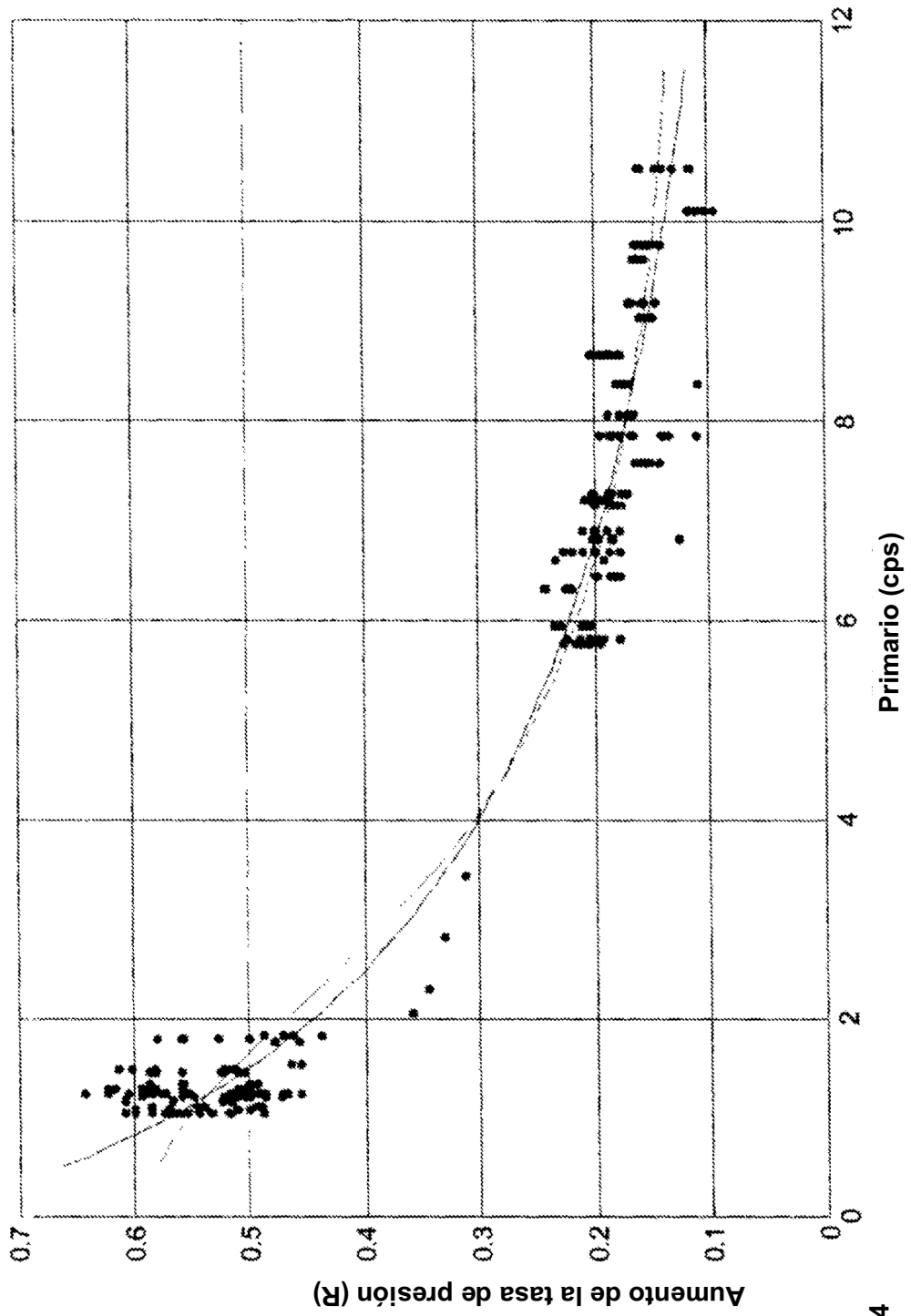


Figura 4

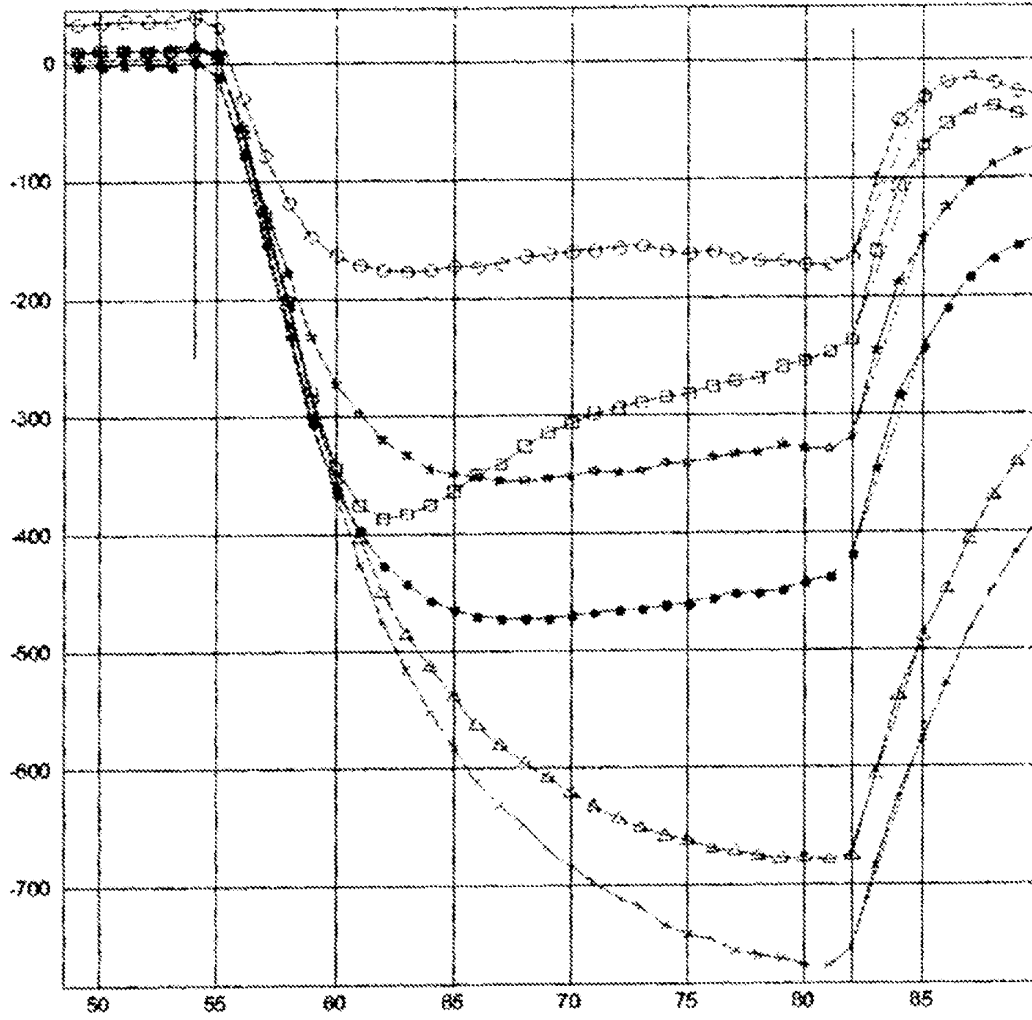


Figura 5

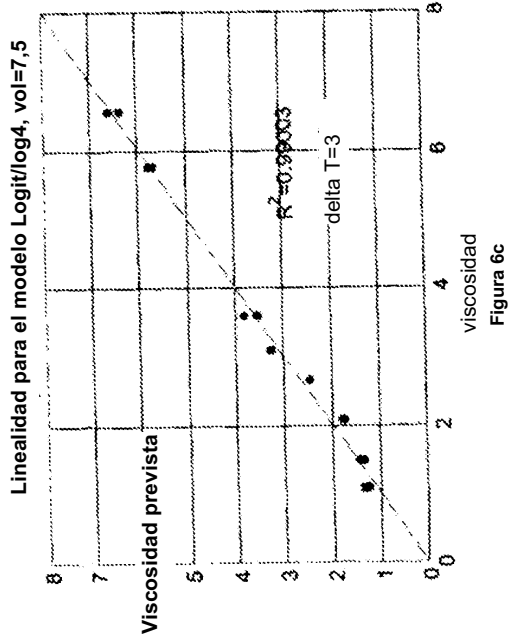
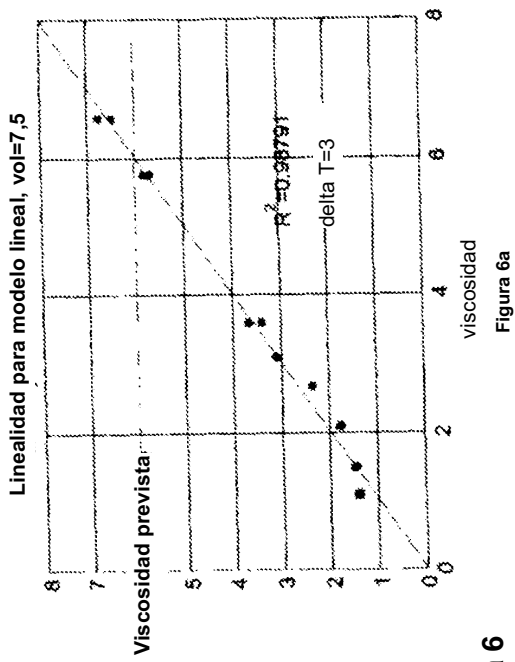
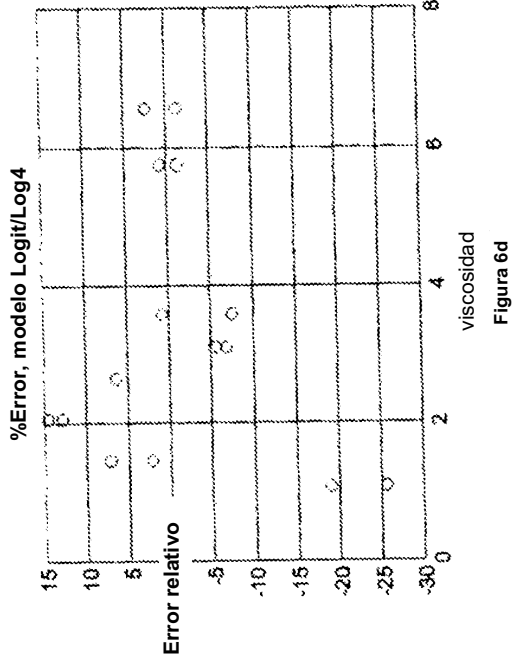
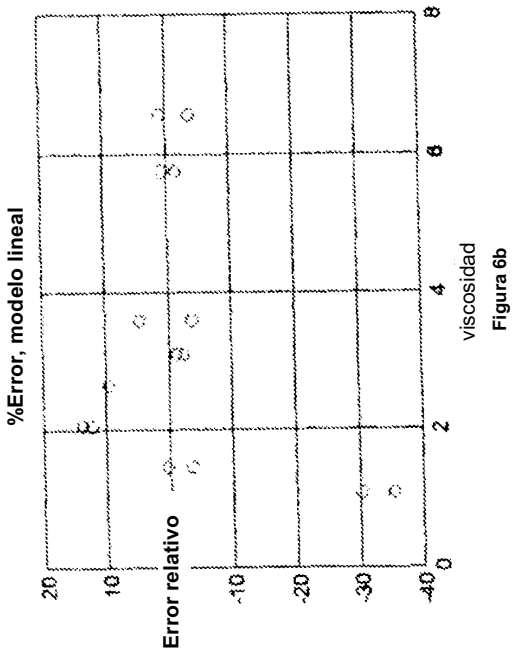


Figura 6

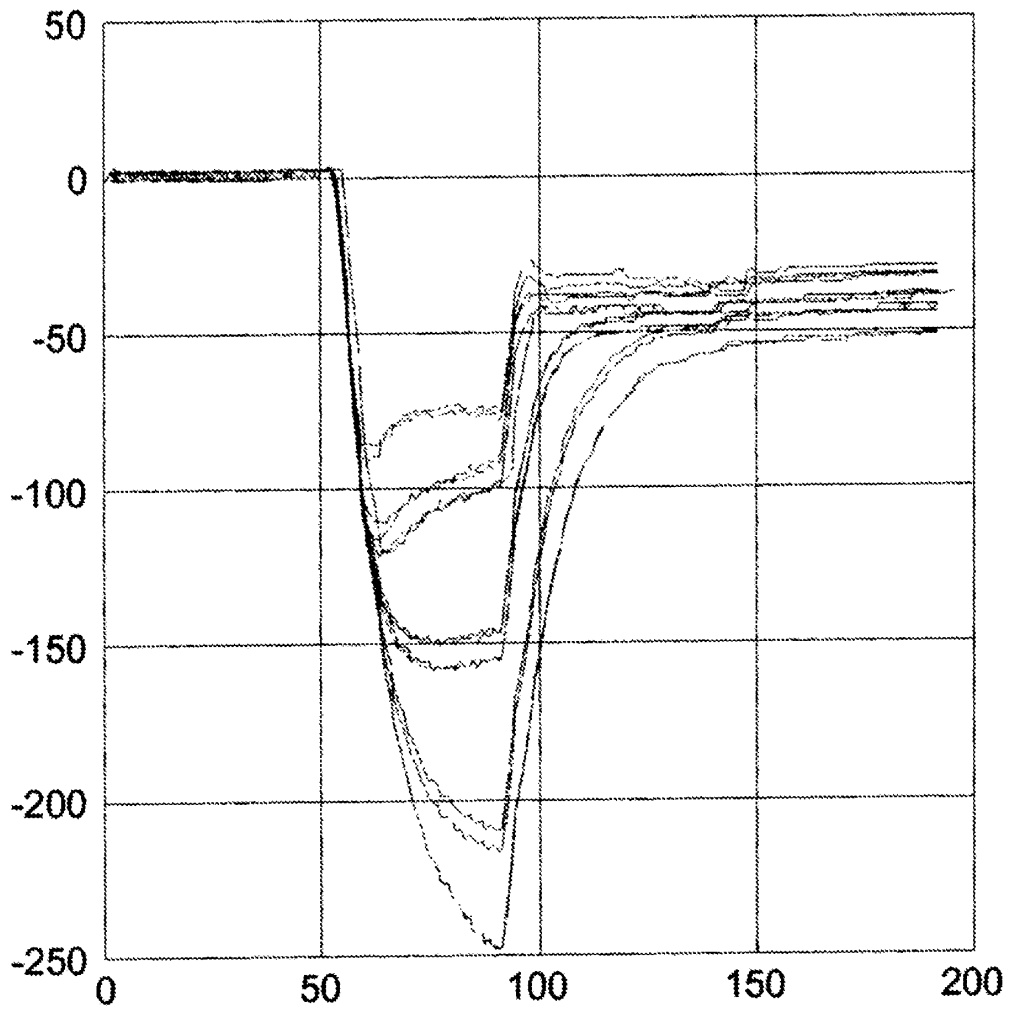


Figura 7

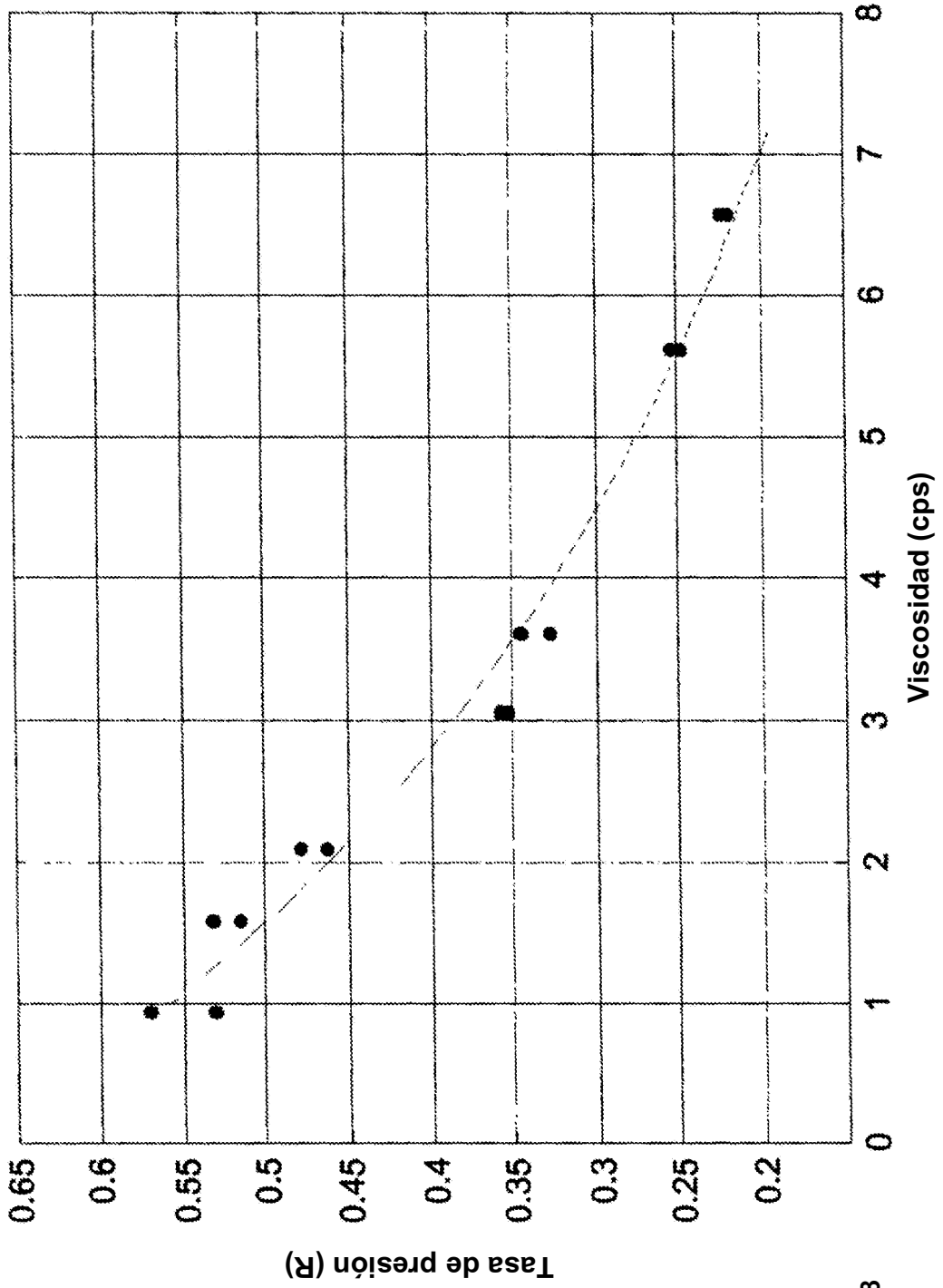


Figura 8

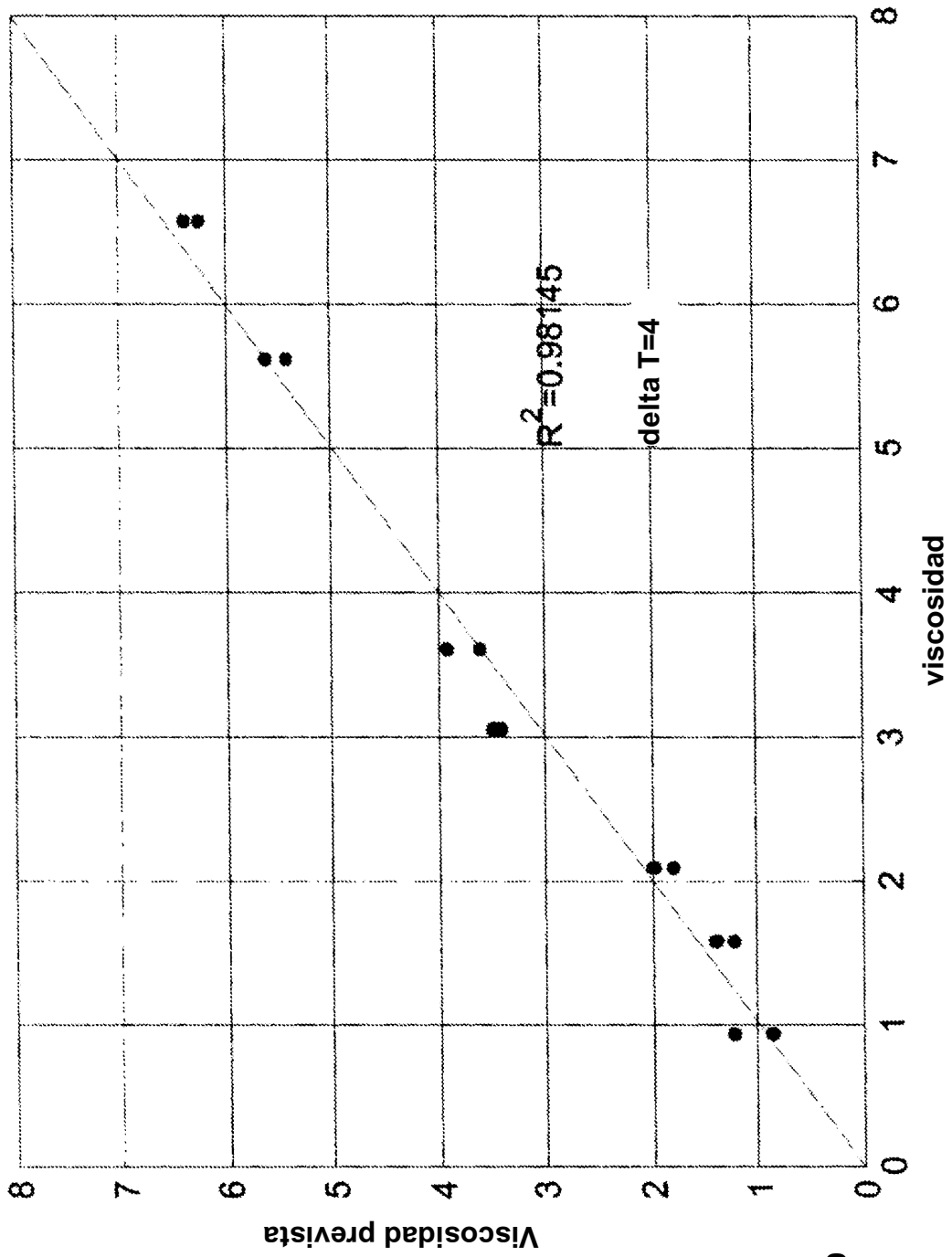


Figura 9

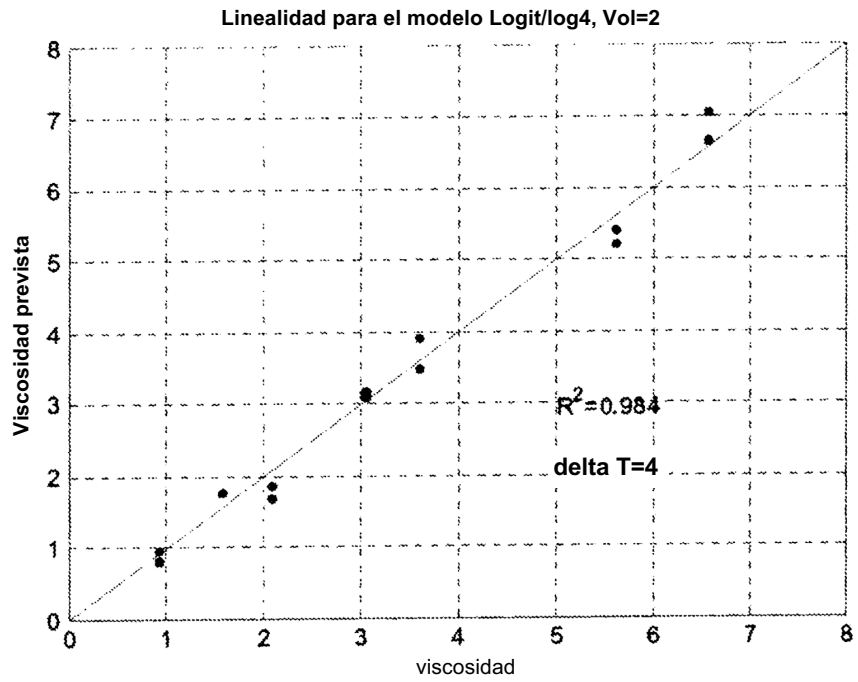


Figura 10

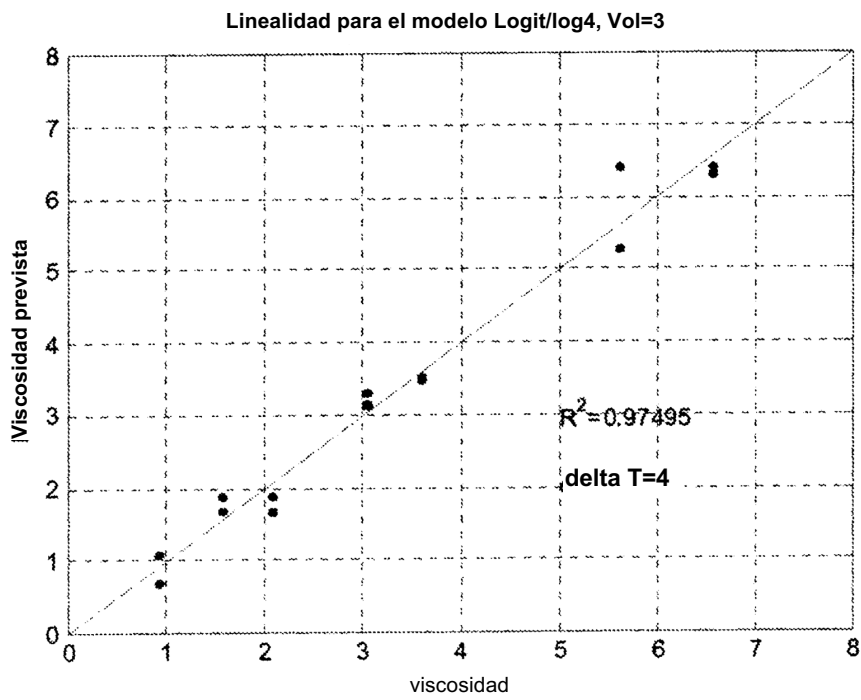


Figura 11

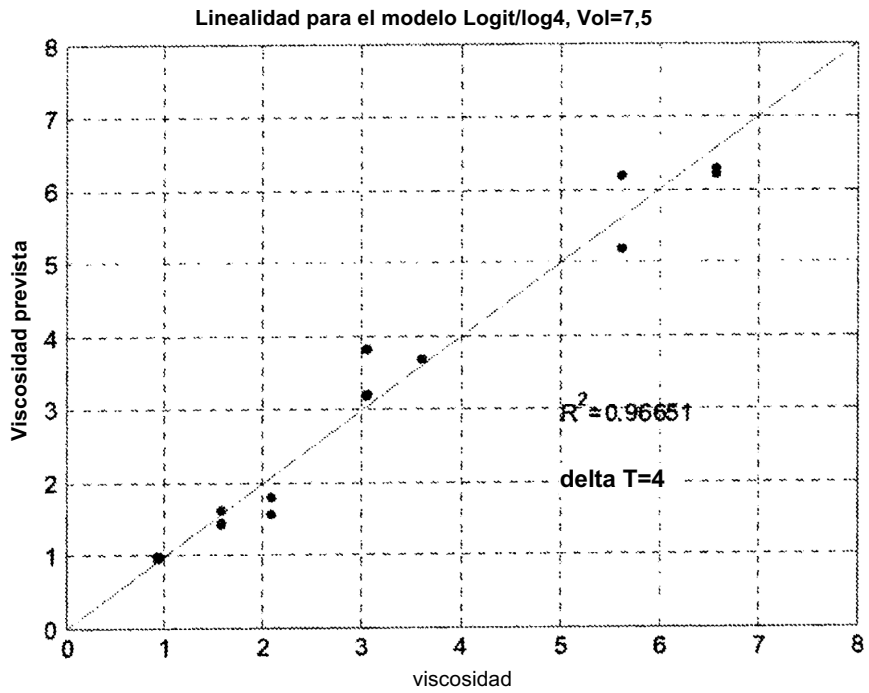


Figura 12

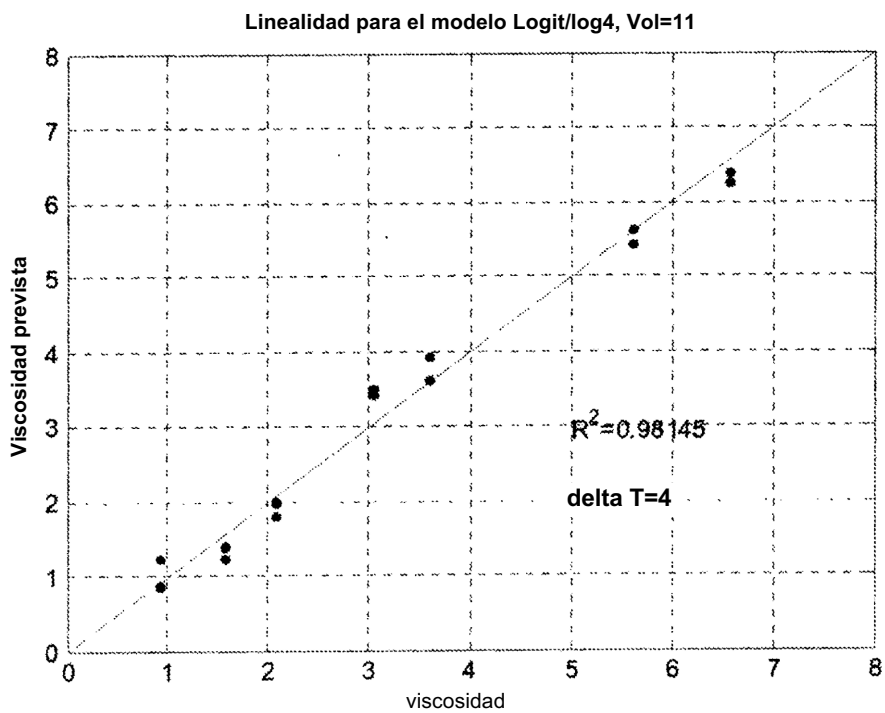


Figura 13

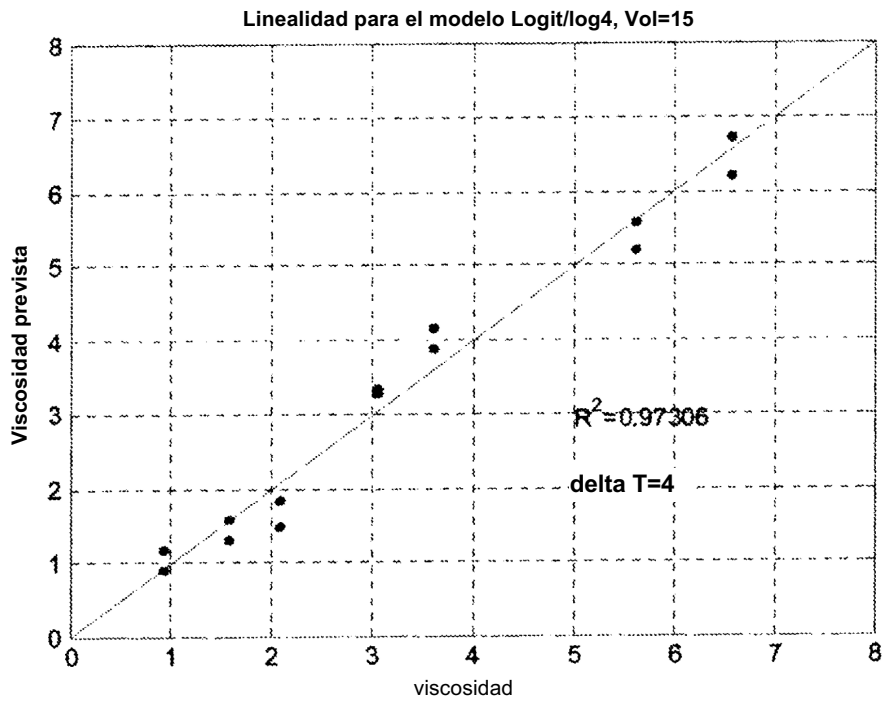


Figura 14

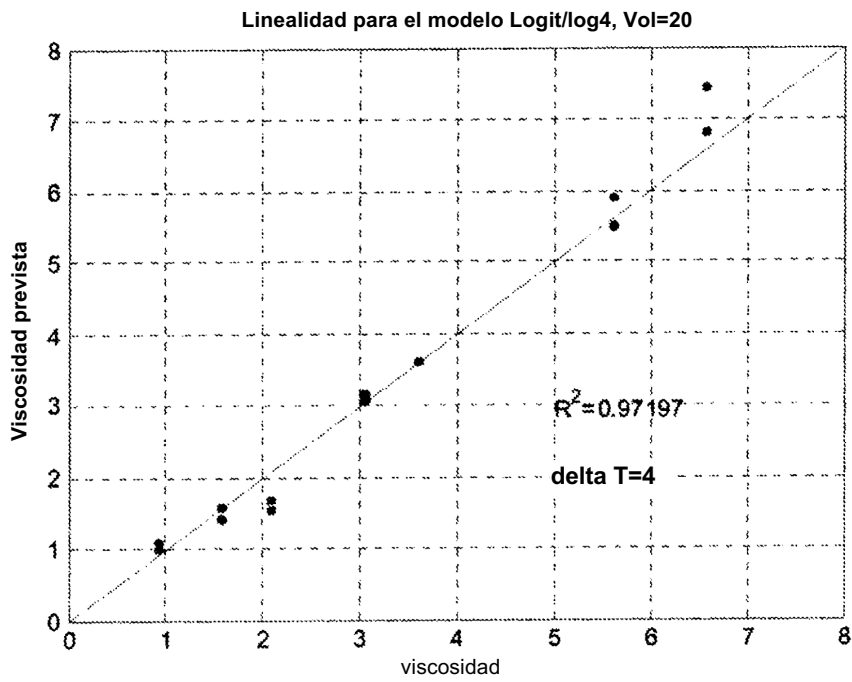


Figura 15