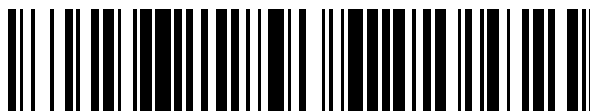


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 784 785**

51 Int. Cl.:

G01N 21/03 (2006.01)

G01N 21/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.09.2015 PCT/IB2015/002072**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.04.2016 WO16051267**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2015 E 15808453 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2020 EP 3201602**

54 Título: **Aparato para la inspección óptica de pequeños volúmenes de muestra líquida y cubetas para el mismo**

30 Prioridad:

29.09.2014 US 201462056911 P

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

30.09.2020

73 Titular/es:

BD Kiestra B.V. (100.0%)

Marconilaan 6

9207 JC Drachten, NL

72 Inventor/es:

LANGHOFF, BRIAN REUBEN;

FOX, WILLIAM ALAN y

SMITH, KERRY LYNN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 784 785 T3

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

DESCRIPCIÓN

Aparato para la inspección óptica de pequeños volúmenes de muestra líquida y cubetas para el mismo

Antecedentes de la invención

5 Los cultivos bacterianos se hacen crecer ordinariamente en placas de medio especializado. Las placas generan colonias en masa y algunas colonias aisladas. Las colonias aisladas tienen ordinariamente la forma más pura de bacterias debido a que la colonia crece usualmente a partir de un número limitado de bacterias y es aislada a partir de otro crecimiento bacteriano. Se desea usualmente ensayar el menor número de colonias para asegurar la pureza de la muestra. Sin embargo, las actuales prácticas de laboratorio requieren recoger muestras del medio y diluir las muestras en tubos que contengan un volumen de fluido relativamente grande. La obtención de una concentración
10 suficiente de material bacteriano en la suspensión fluida requiere cosechar un gran número de colonias bacterianas a partir de la placa del medio con el fin de realizar una suspensión. Una desventaja es que esta técnica puede reducir la pureza de la muestra.

15 Una solución es crear una suspensión altamente concentrada a partir de una baja producción de muestra bacteriana usando pequeños volúmenes de fluido (por ejemplo, 200-500 μL). Esto es especialmente importante en la automatización de máquinas cuando se usa un sistema automatizado de recogida de colonias para cosechar las muestras y crear la suspensión. Por ejemplo, puede ser requerido un recogedor o captador automatizado de colonias para efectuar varias pasadas a la placa del medio con el fin de recoger colonias cuando se genera la suspensión. Se obtienen resultados óptimos si el recogedor selecciona de un número relativamente pequeño de colonias (por ejemplo, 5 o menos) con el fin de crear una suspensión con adecuada concentración bacteriana. Esta solución requiere un volumen de fluido de suspensión de 300 μL o menor. Un inconveniente es que es difícil
20 determinar la concentración bacteriana en un pequeño volumen de fluido con una suspensión muy concentrada. Por lo tanto, existe la necesidad de un sistema y de métodos para determinar con exactitud concentraciones bacterianas en un pequeño volumen de fluido mientras se diluyen automáticamente las muestras hasta la concentración deseada.

25 La concentración bacteriana puede ser determinada midiendo la turbiedad o "nebulosidad" de un cultivo y después trasladando esta medición a números de células (CFUs). El método microbiológico estándar de estimación de la turbiedad de una muestra está basado en la obtención de un valor cuantitativo conocido como un valor de McFarland. Los valores de McFarland son bien conocidos por los expertos en la técnica y no se describen con detalle en esta memoria. Las normas de McFarland son soluciones de una turbiedad conocida que se usan para
30 normalizar la densidad del cultivo en laboratorios microbiológicos, clínicos y otros similares.

La turbiedad de suspensiones bacterianas se determina usualmente mediante un instrumento tal como un nefelómetro o un densitómetro. Los instrumentos basan sus mediciones en principios físicos de dispersión de luz que resultan de la interacción de la luz con partícula(s) en una suspensión. La turbiedad de las muestras efectúa la transmisión y dispersión de la luz, y permite una medición de la intensidad de luz transmitida a través de una
35 muestra. Un nefelómetro es un instrumento automático utilizado para medir la turbiedad de una muestra mediante el paso de luz a través de la muestra según un cierto ángulo y mide la intensidad de la luz dispersada. Tal medición se basa en el principio de que una suspensión diluida de pequeñas partículas dispersará la luz que se hace pasar a través de (no absorbida por) las partículas. La magnitud de la dispersión es determinada captando la luz según un ángulo de 30 ó 90 grados.

40 Los nefelómetros actualmente usados en los laboratorios están diseñados para recibir las muestras dentro de un tubo/vaso redondo. Esta práctica produce resultados aceptables siempre que los tubos o vasos sean limpiados antes de usarlos y se sitúen dentro del aparato en la misma orientación para cada muestra respectiva. Para la nefelometría, los tubos redondos tienen varios inconvenientes. Uno es que los tubos no son desechables y deben ser lavados antes de ser nuevamente utilizados, corriendo el riesgo de contaminación cruzada. Otro inconveniente
45 es que las trayectorias de la luz son más variables a través de tubos redondos, haciendo difícil obtener uniformidad de muestra a muestra y de tubo a tubo.

En casi todos los casos, se requiere un vaso que tenga una única configuración para cada muestra situada dentro del nefelómetro para la medición de la turbiedad. El uso de vasos que tienen diversos tamaños y formas puede proporcionar lecturas de turbiedad no uniformes para cada muestra. Se necesitan aparatos y métodos que estén
50 diseñados para minimizar la variabilidad de mediciones entre los vasos, así como minimizar el efecto de la difracción y la refracción sobre la luz cuando la misma se hace pasar a través y entre diferentes medios.

Además, la mayoría de los nefelómetros, tales como el PhoenixSpec™ (Becton Dickinson), requieren una longitud de celda de al menos un (1) centímetro (cm) en sus tubos asociados, y por lo tanto no son para usar con un volumen muy pequeño de suspensiones microbianas, tales como, por ejemplo, suspensiones de aproximadamente 200 o
55 aproximadamente 500 microlitros (μL). En tubos de ensayo estándar (por ejemplo, un tubo de ensayo de 15 ml), una suspensión tan baja como 500 μL puede producir longitudes de celdas de menos que 1 cm, lo que no sería adecuado para medir el valor de McFarland usando un nefelómetro disponible comercialmente. Puede ser usado, por ejemplo, un tubo de ensayo más estrecho para aumentar la altura de la muestra hasta un nivel detectable. Sin

embargo, tales tubos de ensayo no son utilizados a menudo con nefelómetros y/o densitómetros debido a que estos instrumentos están diseñados para alojar tubos de ensayo de tamaños y configuraciones concretos. Por lo tanto, se necesitan un aparato y un método que puedan permitir una medición rápida y exacta de la turbiedad para suspensiones que tengan un volumen menor que aproximadamente 500 μL , y preferiblemente tan bajo como aproximadamente 200 μL . Además, se necesitan un aparato y métodos en los que la muestra pueda ser purificada y diluida dentro del vaso para estimar la turbiedad, en los que el vaso esté configurado para diluir la muestra y proporcionar mediciones de turbiedad exactas y uniformes para volúmenes de muestra pequeños.

La publicación de patente No. 2014/146313 A1 de Estados Unidos describe una cubeta para la medición de luz dispersada dinámicamente y luz dispersada estáticamente. Este documento describe una cámara 303 de medición de muestra que es más estrecha que la porción superior de la cubeta 302. Además, este documento describe un foso 306 que rodea la cámara 302 de medición de la muestra. El exceso de muestra fluye hacia el interior del foso y no es retenido en la porción superior de la cubeta.

El documento EP 1909094 A1 describe un tubo que está recibido en un orificio de recepción 28c para mediciones de turbiedad. El documento EP 0661532 A2 describe una cubeta (1) con una sección transversal superior circular y una sección transversal inferior cuadrada. El documento EP 2466291 A1 describe una cubeta con una porción superior con una sección transversal mayor y una porción de medición inferior con una sección transversal menor. El documento US 2014/050619 A1 describe una cubeta con varias simetrías diferentes (por ejemplo, una sección superior circular 10, una segunda sección 12 con cuatro caras planas y una base 16 que es rotacionalmente simétrica (es decir, semicircular). El documento WO 2013/004674 A1 describe un método para medir la turbiedad de muestras de pequeño volumen en una cubeta tubular. En el documento WO 2013/004674 A1 el haz incidente L1 es dirigido desde arriba y después dispersado. El detector 4 está situado para detectar la luz dispersada según un eje de medición M que forma un ángulo α de aproximadamente 90° con respecto al haz de luz incidente. La patente No. 5.331.177 de Estados Unidos describe la medición de la turbiedad de un fluido que circula a través de un conducto.

Breve compendio de la invención

El aparato y la cubeta descritos en esta memoria cooperan para proporcionar la interrogación óptica exacta de un pequeño volumen de muestra. La interrogación óptica, según se usa en esta memoria, es la transmisión de una señal óptica a la muestra dentro de una cubeta ópticamente transparente. Ejemplos de interrogación óptica incluyen la espectrometría y la nefelometría. La invención se describe en términos de nefelometría, pero los aspectos de la cubeta descritos en esta memoria son aplicables y adaptables a otros dispositivos para la interrogación óptica. En una realización, el aparato y los métodos de acuerdo con la presente invención proporcionan una estimación exacta de valores de McFarland de una suspensión microbiana para volúmenes de muestra que tienen un volumen de aproximadamente 100 μL a aproximadamente 500 μL y todos los volúmenes e intervalos dentro de ese intervalo utilizando detectores/sensores electrónicos y vasos especializados. En esta memoria se definen pequeños volúmenes en cualquier otra parte. Los detectores/sensores y el nefelómetro cooperan para proporcionar una trayectoria de luz uniforme para todas las muestras que son medidas usando los detectores/sensores descritos en esta memoria. Los métodos descritos aquí utilizan los principios de nefelometría, los cuales miden la cantidad de luz dispersada y/o transmitida a través de una muestra para proporcionar una medida de la turbiedad.

En los métodos descritos, se seleccionan el diámetro, el volumen y la orientación del vaso dentro del nefelómetro, con respecto a la fuente de luz, para proporcionar una ventajosa longitud de celda de muestra para las mediciones de turbiedad. De acuerdo con las realizaciones descritas en esta memoria, la muestra biológica es mezclada con un fluido de suspensión directamente en el vaso situado en el sistema o aparato automatizado (es decir, el nefelómetro) diseñado para medir la turbiedad de la muestra. En ciertas realizaciones, una serie continua de receptáculos configurados para recibir vasos (siendo los vasos de varios tamaños, volúmenes y longitudes de celdas) son continuamente indexados a través del aparato. Debido a que el aparato está automatizado, es de uso cómodo en diversas instalaciones microbiológicas, clínicas y laboratorios.

El aparato de acuerdo con la presente invención está definido en la reivindicación 1 y es una disposición de sensores electrónicos situados adyacentes a una cubeta/vaso especializado que es iluminado con una longitud(es) de onda de luz seleccionada(s) desde un LED o una fuente de láser. La cubeta está diseñada para la interrogación de un pequeño volumen de muestra (definido en cualquier otro lugar de esta memoria) para mediciones de turbiedad. En primer lugar, se prepara una suspensión microbiana. La suspensión es a continuación introducida en el vaso. En una realización, el aparato obtiene medidas de turbiedad para las muestras en vasos de pequeño volumen que concentran las muestras en la zona del vaso donde es interrogada la muestra. En algunas realizaciones, los vasos tienen una configuración cuadrada o rectangular. Como tales, las paredes del vaso forman entre sí un ángulo de aproximadamente noventa grados. Esta disposición permite un control más uniforme de espesores de pared, lo cual reduce la variabilidad de las lecturas de McFarland entre vasos, que se elevarían si fueran mayores las variaciones de espesor de pared de un vaso a otro. Así mismo, la forma cuadrada de los vasos permite que la luz entre en el vaso según un ángulo recto con respecto al plano de la superficie del vaso. Esto reduce la cantidad de difracción o refracción de la luz de interrogación cuando entra en el (o abandona el) vaso.

En otras realizaciones descritas en esta memoria se describe un aparato de nefelómetro automatizado que tiene una base, un receptáculo configurado para recibir un vaso, un detector de dispersión, un detector de luz transmitida, un

5 filtro de atenuación de luz, una fuente de luz y una lente de enfoque. El nefelómetro está adaptado para recibir un vaso que tenga una porción de pequeño volumen desde la cual se hacen las mediciones de nefelometría, y una porción de dilución de mayor volumen que está dispuesta para permitir que la suspensión sea diluida hasta la concentración deseada. Se hace referencia al vaso, que está adaptado para ser recibido por el aparato de nefelometría descrito en esta memoria, como un “vaso” o una “cubeta”. En una realización, el aparato está configurado para recibir y tratar un vaso a la vez. En otra realización, el aparato tiene un canal de deslizamiento configurado para recibir una serie continua de vasos situados dentro de un receptáculo lineal. El receptáculo lineal está configurado para tener cavidades que están diseñadas para recibir los vasos. Los vasos pueden recibir muestras líquidas comprendidas en volúmenes de aproximadamente 200 μL a aproximadamente 500 μL .

10 En una realización, la suspensión de muestra es entregada a un vaso único y el vaso es interrogado individualmente por el nefelómetro. Después de haber sido tratada la suspensión de muestra y haber obtenido los valores de McFarland, se retira el vaso del nefelómetro y se coloca un nuevo vaso en el nefelómetro para valoración. En esta realización, el nefelómetro puede tener un receptáculo de cubeta o múltiples receptáculos de cubetas. Cada receptáculo está configurado para hacer mediciones de nefelometría como se describe en esta memoria. En
15 realizaciones en las que el nefelómetro recibe una serie de cubetas para la medición, se disponen una serie de receptáculos de cubeta para facilitar las mediciones de nefelometría de varias suspensiones en paralelo.

20 En una realización alternativa, las cubetas están dispuestas en un conjunto bi-dimensional. La porción inferior, más estrecha, de las cubetas se extiende por debajo del soporte del conjunto. El conjunto se sitúa en la base que recibe el conjunto e inspecciona cada cubeta individualmente. En una realización, el conjunto es situado en la base por un robot.

25 Con respecto al vaso o cubeta, en una realización la cubeta tiene una porción inferior más estrecha y una porción superior más ancha. Opcionalmente existe una transición de porción en estrechamiento desde la porción superior más ancha a la porción inferior. La porción inferior está adaptada para ser recibida por el nefelómetro para la medición. La porción superior y la porción inferior comparten un eje común. En la realización ilustrada, ambas porciones son cuadradas o rectangulares y, por lo tanto, ambas tienen caras planas. En una realización, los planos de las caras de la porción superior son paralelos a los planos de las caras de la porción inferior. En otra realización, los planos de las caras de la porción inferior intersectan los planos de las caras de la porción superior según un ángulo de 45 grados. Sin embargo, no se requiere que las cubetas contempladas en esta memoria tengan una porción superior rectangular o cuadrada. La porción de fondo (a través de la cual se hacen las mediciones) se
30 requiere que sea rectangular o cuadrada por las razones que se describen en cualquier otro lugar de esta memoria.

35 En una realización, el nefelómetro tiene dos detectores que captan simultáneamente la luz que es transmitida y/o dispersada desde las partículas de la suspensión a través de la cual es transmitida la señal óptica. El detector de dispersión lateral está situado para recibir luz según un ángulo de 90 grados con respecto al haz de luz incidente sobre la cubeta. El detector de luz transmitida está situado para recibir luz directamente desde la fuente de luz, que es transmitida a través de la cubeta, continuando a través de la suspensión. En algunas realizaciones, el detector de luz transmitida está situado perpendicularmente al haz de luz incidente. En realizaciones alternativas, el detector de luz transmitida está situado opuesto a la fuente de luz, pero según un ángulo que reduce los efectos de reflexión, refracción y difracción causados por la superficie del detector y la estructura circundante. Un filtro de atenuación de luz está situado entre el vaso y el detector de luz transmitida en algunas realizaciones. En las realizaciones
40 ejemplares se despliega una lente de enfoque. La lente de enfoque está situada directamente frente a una fuente de luz y se usa para enfocar la luz en un haz de luz estrecho a lo largo de la trayectoria de la luz. En algunas realizaciones, el haz de luz es colimado a través de una abertura o de una serie de aberturas (por ejemplo, dos aberturas).

45 Varias realizaciones descritas en esta memoria proporcionan además un método exacto de medir la turbiedad de una suspensión, en el que dicha suspensión tiene volumen insuficiente para ser leída para la mayoría de dispositivos de nefelómetro o densitómetro. Los métodos descritos en esta memoria obtienen estimaciones de turbiedad de una suspensión de líquido que tiene pequeños volúmenes, en el intervalo de aproximadamente 200 μL a aproximadamente 500 μL . Los métodos y aparatos descritos en esta memoria pueden ser utilizados también para medir la turbiedad de suspensiones de muestra de mayores volúmenes. Los métodos descritos en esta memoria
50 permiten además la dilución automatizada de la suspensión de muestra dentro de los vasos diseñados de acuerdo con la presente invención. Los métodos incluyen colocar un fluido de suspensión en un recipiente, añadir la muestra biológica sospechosa de organismos contaminantes al fluido de suspensión, mezclar la muestra y medir la turbiedad inicial de la muestra. El volumen de la suspensión de fluido inicial es preferiblemente de 300 μL o menor. De ese modo, si se requiere dilución, la dilución no causará que el volumen total exceda mucho de aproximadamente 3,6
55 mL. Es decir, el aparato y los métodos descritos en esta memoria no están limitados a la medición de la turbiedad de solo volúmenes pequeños. Si la turbiedad de la suspensión de muestra inicial es menor que la turbiedad objetivo predeterminada, se añade fluido de suspensión adicional utilizando el sistema automatizado de la presente invención para diluir más la muestra y repetir las mediciones de turbiedad para la suspensión diluida. Los métodos de varias realizaciones permiten medir niveles de McFarland de muestras para usar con métodos tales como
60 Espectrometría de Masas (por ejemplo, desorción/ionización de láser asistida por matriz – espectrómetro de masas de tiempo-de-vuelo, MALDI-TOF).

Breve descripción de los dibujos

Para ayudar a los expertos ordinarios en la técnica relevante en la fabricación y uso del objeto de la misma, se hace referencia a los dibujos adjuntos.

La figura 1A ilustra una realización de nefelómetro de cubeta única de bajo volumen.

5 La figura 1B es una vista en corte del nefelómetro de cubeta única, a lo largo de la línea 1-1 de la figura 1A.

La figura 2A es una vista en perspectiva de la figura 1B.

La figura 2B es una vista en perspectiva de un nefelómetro de cubeta continuo.

La figura 3 ilustra un diseño de conjunto/ tira de cubetas múltiples lineal, de bajo volumen, para el nefelómetro de cubetas en serie continua.

10 La figura 4A ilustra una cubeta de acuerdo con una realización de la presente invención.

La figura 4B ilustra una cubeta de acuerdo con una realización alternativa de la presente invención.

La figura 5 es un diagrama de flujo de proceso que ilustra una realización de un procedimiento para preparar una muestra que utiliza el nefelómetro descrito en esta memoria.

La figura 6 ilustra cubetas apiladas.

15 La figura 7 es una vista en corte del camino del detector de luz transmitida para una realización de la presente invención.

La figura 8 es una vista en corte del camino del detector de luz dispersada para una realización de la presente invención.

20 La figura 9 es una vista corte de la realización de la figura 7, pero que ilustra la fuente óptica y el detector de luz transmitida.

La figura 10 es una vista en perspectiva del nefelómetro de acuerdo con una realización.

Descripción detallada

25 Las realizaciones descritas en esta memoria proporcionan métodos automatizados de medir la turbiedad de suspensiones líquidas usando vasos que están configurados para recibir y medir bajos volúmenes de muestras, aunque facilitando la dilución de la suspensión dentro de vasos individuales. Los métodos descritos permiten además la medición de niveles de turbiedad en suspensiones que tienen volumen insuficiente para ser medidas usando vasos y aparatos convencionales. El aparato de nefelometría descrito en esta memoria está configurado para la integración en un sistema en el que están automatizadas la dilución y las mediciones de la turbiedad de la suspensión.

30 Todos los valores numéricos dentro de la descripción detallada y las reivindicaciones de esta memoria están modificados por "aproximadamente" el valor indicado y tienen en cuenta errores y variaciones experimentales que podrían ser esperados por una persona con un conocimiento ordinario en la técnica.

35 Según se utiliza en esta memoria, una muestra de "bajo volumen" y/o de "pequeño volumen" se refiere a una muestra que tiene un volumen de aproximadamente 100 μL a aproximadamente 500 μL y todos los volúmenes e intervalos dentro de ese intervalo (es decir, de aproximadamente 100 μL a aproximadamente 200 μL ; de aproximadamente 100 μL a aproximadamente 300 μL ; de aproximadamente 100 μL a aproximadamente 400 μL ; de aproximadamente 200 μL a aproximadamente 500 μL ; de aproximadamente 200 μL a aproximadamente 300 μL ; de aproximadamente 200 μL a aproximadamente 400 μL ; de aproximadamente 300 μL a aproximadamente 500 μL ; de aproximadamente 300 μL a aproximadamente 340 μL , de aproximadamente 400 μL a aproximadamente 500 μL , etc.).

40 Según se usa en esta memoria, las expresiones "suspensión líquida" y/o "muestra líquida" se refieren a una mezcla de partículas solubles y/o insolubles y/o materiales sólidos dispersados en un líquido. En algunas realizaciones la muestra líquida es una muestra biológica. Ejemplos de una mezcla biológica son bien conocidos por los expertos en la técnica y no se describen aquí con detalle. Ejemplos representativos incluyen tejido biológico, fluido obtenido en vivo, sangre nueva, sangre entera almacenada, etc.

45 Según se usa en esta memoria, una "cubeta" y/o "micro-cubeta" y/o "cubeta de bajo volumen" y/o "LVC" y/o "vaso para muestra" o "vaso" es el recipiente apropiado para recibir una suspensión líquida. El recipiente está hecho preferiblemente de plástico o vidrio ópticamente transparente que está diseñado para contener una muestra de ensayo en un espacio y una orientación concretos para ensayo o tratamiento.

Según se usa en esta memoria, “algoritmos” son una o más instrucciones matemáticas que se usan para manipular valores de datos para tomar una decisión basada en un valor matemático y producir a continuación un valor de datos corregido o más exacto, representativo de la salida o resultado deseado.

5 Según se utiliza aquí, un “amplificador” es un circuito electrónico que se utiliza para recibir una señal electrónica original más pequeña y aumentar su amplitud para producir una señal nueva proporcionalmente mayor que es representativa de la señal original. Amplificadores apropiados son bien conocidos por los expertos en la técnica y no se describen en esta memoria con detalle.

10 Según se utiliza aquí, un “convertidor de analógico en digital” o “convertidor A/D” es un dispositivo electrónico que es capaz de recibir una señal eléctrica variable y convertirla en un número que es representativo de la amplitud de la señal original.

Según se utiliza en esta memoria, “dilución” significa una solución o suspensión producida añadiendo un diluyente líquido a una solución o suspensión concentrada, dando lugar a una nueva suspensión o solución con una concentración uniforme de muestra en la solución o suspensión inferior a la original.

15 Según se usa en esta memoria, “láser” o “diodo de láser” es un dispositivo electrónico que produce un haz de luz concentrado y enfocado cuando se aplica una corriente eléctrica.

Según se usa aquí, “filtro de atenuación de luz” es un dispositivo que está situado en una trayectoria de luz para absorber y reducir la cantidad de luz a medida que pasa a través del filtro, dando lugar a que la luz que ha pasado a través del filtro tenga proporcionalmente menor intensidad que la fuente de luz original.

20 Según se usa aquí, “diodo de emisión de luz” o “LED” es un dispositivo electrónico que emite luz de una clase y orientación concretas cuando se aplica una corriente eléctrica.

Según se usa en esta memoria, “McFarland” es una unidad de medida de la cantidad de partículas sólidas dispersas en una suspensión fluida o líquida.

25 Según se usa en esta memoria, “nefelómetro” es un instrumento que es capaz de medir la cantidad de partículas sólidas en una suspensión. Según se usa en esta memoria, “nefelometría” se refiere a un método mediante el cual se puede medir la cantidad de sólidos suspendidos en una suspensión.

Según se usa en esta memoria, “foto-diodo” y/o “detector” es un dispositivo electrónico usado para medir la intensidad de luz en un entorno dado.

30 Según se usa en esta memoria, “saturada” y/o “saturación” es el punto en el cual el detector ha alcanzado la cantidad máxima de señal de salida que es capaz de producir. Por ejemplo, el añadir más luz al foto-detector más allá de la saturación no produce ningún cambio adicional de la señal de salida del detector, que ha alcanzado su capacidad de operación máxima.

Según se usa en esta memoria, “suspensión” es una solución en la que están distribuidos uniformemente sólidos en el líquido.

35 Según se usa en esta memoria, “turbiedad” es la medida de la cantidad de sólidos sospechosos en una solución (es decir, nebulosidad de una muestra líquida).

En las realizaciones descritas en lo que sigue, el aparato se describe en términos de un dispositivo que está configurado para detectar luz que es tanto transmitida a través de la muestra como dispersada por la muestra que hay en la cubeta.

40 En algunas realizaciones, un foto-detector adicional puede estar dispuesto al lado de la trayectoria de la luz para uno de entre el detector de luz dispersada, el detector de luz transmitida o ambos. En las realizaciones donde la fuente de luz es un LED, la medición hecha por este foto-detector adicional se usa en un bucle de control para ajustar la corriente al LED y mantener una intensidad de luz constante y repetible. El uso de tales detectores para controlar la salida del LED, enfrentarse al cambio térmico y compensar cualquier degradación de la salida de señal es bien conocido por los expertos en la técnica y no se describe con detalle en esta memoria.

45 La figura 1 ilustra el sistema de una realización descrita en esta memoria para medir la turbiedad de una muestra líquida usando un nefelómetro y principios de nefelometría. El sistema de muestra está diseñado para alojar una cubeta única 110 que tiene un fluido de suspensión 120 situado dentro de una base 100 de nefelómetro, como se muestra en la figura 1A. El sistema incluye también una fuente de luz 130, una lente de enfoque 170, un detector 140 de dispersión lateral, un detector 150 de luz transmitida y un filtro 160 de atenuación de luz (figura 1B). La cubeta 110 con una muestra 120 se sitúa en el centro del aparato y dentro de la base 100 del nefelómetro. La fuente de luz 130, el detector de dispersión 140 y el detector de luz transmitida 150 están colocados formando ángulos de 90 grados entre sí alrededor de la cubeta 110. Colocando el detector de dispersión 140 dentro de la estrecha proximidad a la cubeta que contiene la suspensión 120 de muestra y paralelo a la fuente de luz incidente, se

minimizan los efectos de difracción, refracción y reflexión de la luz dispersada. El detector 150 de luz transmitida está situado a 180 grados u opuesto con respecto a la fuente de luz 130. El detector 150 puede estar también orientado ya sea perpendicularmente al haz de luz incidente o según un ángulo diferente para reducir efectos de reflectancia desde sus superficies. El filtro 160 de atenuación de luz está situado entre la cubeta 110 y el detector de luz transmitida 150. El sistema para medir la turbiedad detecta la luz dispersada y/o transmitida que ha pasado a través de la muestra ensayada según cierto ángulo. En esta configuración, son tratadas suspensiones de muestra dentro del vaso 110.

La invención contempla el uso de vasos/cubetas de poco volumen (o micro-cubetas) que están diseñados para tratar cantidades relativamente pequeñas de suspensiones biológicas y fluidas para usar con el nefelómetro de pequeño volumen. En las realizaciones de ejemplo, la cubeta es moldeada a partir de plástico ópticamente transparente con lados en mínimo estrechamiento que tienen un pulido ópticamente liso para estar convenientemente orientados dentro del nefelómetro descrito en esta memoria. Las cubetas pueden estar configuradas como unidades individuales para aplicaciones de un solo uso. En las realizaciones donde se usan una serie de cubetas para preparar suspensiones, las cubetas pueden estar configuradas para usar con un conjunto de matriz diseñado para tratar múltiples muestras simultáneamente. En la realización de matriz, son preparadas en paralelo múltiples series de suspensiones. Las figuras 4A-B ilustran realizaciones alternativas del diseño de cubetas de bajo volumen para utilizar con nefelómetros descritos en esta memoria. La cubeta 110 tiene una porción inferior 410 que tiene un volumen pequeño. La suspensión es inicialmente preparada en la porción de pequeño volumen. La suspensión es por lo tanto dispuesta en primer lugar dentro de la porción inferior 410 de la cubeta. A continuación, la muestra biológica sospechosa de contener uno o más microorganismos objetivo se añade a, y se mezcla con, la suspensión fluida para proporcionar una suspensión 120 de muestra de ensayo. Se mide la turbiedad de la suspensión en la porción inferior 410. Se hace pasar la luz de la fuente 130 a través de la suspensión de muestra 120 que está dispuesta dentro de la parte inferior 410. El aparato de medición está configurado para medir la turbiedad de la muestra en la porción inferior 410 de la cubeta. Debajo de la porción inferior 410 hay una zona 420 de recogida de "partículas grandes", que está diseñada para recibir grandes partículas que sedimentan desde la suspensión de muestra, que de otro modo afectarían adversamente la exactitud de las mediciones de turbiedad hechas por el nefelómetro. Las muestras de bajo volumen tienen, por lo demás, insuficiente volumen para permitir que las partículas contaminantes sedimenten desde la porción de la suspensión interrogada por el nefelómetro. Por ejemplo, una luz que pasa a través de una suspensión de bajo volumen que contiene impurezas en partículas puede no diferenciar entre la muestra en suspensión y las impurezas y puede producir valores de McFarland inexactos que harán a su vez que la muestra sea tratada inadecuadamente. Por ejemplo, un valor inexacto de McFarland puede dar una información de dilución errónea. Un valor de McFarland inexacto puede hacer que una muestra sea tratada aguas abajo (ya sea por AST o Maldí, por ejemplo), cuando, habiendo sido conocido el valor de McFarland verdadero, la muestra no habría sido tratada adicionalmente. Es decir, el valor de McFarland verdadero habría informado al operador que la muestra no era apropiada para Maldí o AST. Además, la presencia de impurezas en la muestra puede interferir con las mediciones de concentración exactas de la muestra que está siendo ensayada. Las cubetas de acuerdo con la presente invención proporcionan una zona de recogida 420 que está fuera de la trayectoria de luz directa que pasa a través de la porción inferior 410. Los contaminantes en partículas sedimentan en la zona de recogida 420 y no permanecen en la zona ensayada de la suspensión de muestra, lo cual ocurre en la porción inferior 410. La longitud de celda de la porción inferior está en el intervalo de aproximadamente 5,5 mm y está diseñada para proporcionar suficiente longitud de celda para muestras de bajo volumen para obtener mediciones de turbiedad adecuadas. La porción inferior está diseñada para proporcionar suficiente longitud de celda una vez que está preparada una suspensión de muestra de ensayo con el fin de que pase la luz a través de las muestras y sea capturada por los detectores 140 y 150. Preferiblemente, la porción inferior 410 está hecha de un material óptico altamente pulido o un material que tiene claridad óptica, y otros materiales ópticamente transmisores conocidos por un experto en la técnica. Tales materiales permiten que la luz pase a través de las paredes de la porción inferior de la cubeta sin interferencia.

Un experto en la técnica apreciará que existen tres dimensiones de libertad de diseño para configurar la porción de volumen pequeño de la cubeta. Las dimensiones del volumen pequeño son ampliamente una cuestión de elección de diseño. En una realización, las dimensiones de la porción de pequeño volumen están configuradas para recibir un dispositivo (por ejemplo un útil de captación) que introducirá la muestra en la porción inferior de la cubeta. Por ejemplo, y no a modo de limitación, la porción inferior de la cubeta está dimensionada para proporcionar espacio adecuado para que un útil de captación de 3 mm sea sumergido y hecho girar dentro de la porción inferior de tal manera que no toque los lados de la cubeta, creando ralladuras y aberraciones superficiales que degradarían la transparencia óptica de la cubeta.

Por supuesto, las dimensiones de la porción inferior deben permitir la inspección óptica de la muestra. Concretamente, la porción inferior de la cubeta está dimensionada para trabajar con la fuente óptica y detectores del dispositivo de inspección óptica. Las limitaciones dimensionales sobre el diseño de cubeta son, por lo tanto, una función de la configuración del dispositivo que interrogará ópticamente la muestra.

Por encima de la porción inferior 410 está la porción superior 400, que se usa para diluir la suspensión de muestra situada dentro del vaso para tratamiento adicional en aplicaciones de aguas abajo. La porción superior 400 tiene una anchura y una longitud mayores que la porción inferior 410. Preferiblemente, las dimensiones internas del vaso

están diseñadas para permitir la mezclado automatizada de la muestra biológica con un fluido de suspensión para diluir más la suspensión de muestra de ensayo directamente dentro del vaso cuando se necesite. En funcionamiento, el diseño de vasos apilados permite medir la turbiedad de la suspensión de muestra y si la turbiedad objetivo no ha sido lograda, diluir más la muestra y repetir las mediciones de turbiedad. Una tal configuración permite la dilución de la muestra en tiempo real (es decir, cuando la muestra está siendo ópticamente interrogada). Además, el diseño de vasos apilados hace posible medir la turbiedad de suspensiones de muestras de bajo volumen (por ejemplo suspensiones con un volumen de aproximadamente 200 μL a aproximadamente 500 μL), aunque tienen los beneficios de un volumen mayor para permitir la dilución de la muestra.

En las realizaciones de ejemplo, el vaso es una cubeta apilada en dos. La capa superior tiene un perímetro aproximadamente cuadrado o rectangular. Básicamente, la configuración geométrica de la parte superior es una cuestión de elección de diseño. La capa o parte inferior tiene también un perímetro aproximadamente cuadrado. La cubeta se "mueve telescópicamente" desde la parte superior a la inferior debido a que la parte superior tiene dimensiones mayores (en sección transversal horizontal) que la parte inferior. Se contemplan también formas alternativas de la cubeta siempre que las paredes laterales de la porción inferior de la cubeta formen un cierto ángulo entre sí (por ejemplo, la cubeta no es cilíndrica, elíptica, etc.). Se ha visto que el posicionamiento de las paredes de la porción inferior de la cubeta (es decir, la porción recibida por el nefelómetro) según un cierto ángulo entre ellas (en comparación con un tubo de forma redonda) permite menor aberración de la señal óptica y mejor mezclado de la muestra de ensayo. En una realización ilustrada, la porción superior 400 ha sido seleccionada de manera que tiene cuatro lados o caras 430 que son perpendiculares entre sí, definiendo de ese modo un cuadrado. La porción inferior 410 tiene también cuatro lados 440 que son perpendiculares entre sí, pero las dimensiones de los cuatro lados 440 son menores que las de los lados 430. La porción inferior 410, menor, está configurada para ser recibida por la base del nefelómetro y/o el conjunto de cubetas lineal. La parte superior de la cubeta tiene una abertura 450 para recibir la muestra y el diluyente. Las paredes laterales 430 y 440 de las porciones superior e inferior, respectivamente, están configuradas como superficies planas. Sin estar vinculado a cualquier teoría particular, se cree que las superficies planas minimizan la difracción y la refracción de la luz que pasa a través de la superficie de la cubeta. Además, la configuración cuadrada de las cubetas/vasos permite que las trayectorias de luz pasen a través y dentro de la suspensión de la muestra y el vaso en ángulos rectos con respecto al plano superficial del vaso. Esta configuración minimiza también el potencial para difracción y refracción de la fuente de luz 130 a medida que entra en y abandona la cubeta.

Se contemplan varias configuraciones de la cubeta. En una realización, la porción superior de la cubeta se estrecha hacia la porción inferior. Las esquinas de la porción superior se alinean con las esquinas de la porción inferior como se puede ver por los lados planos 401 (figura 4A). Los lados en estrechamiento 401 delimitan la transición entre la porción superior 400 más ancha y la porción inferior 410 más estrecha. En otra realización, los lados de la porción superior 400 están desplazados de los lados de la porción inferior 410 como se ilustran los lados desplazados 402 en la figura 4B. Por ejemplo, los lados 402 están inclinados en 45 grados con respecto los lados de la porción superior. Ventajosamente, esta configuración permite que la fuente de luz y los detectores estén dispuestos en cualquier lado de la cubeta cuando la cubeta está situada dentro de la base del nefelómetro. La colocación de las cubetas con lados 402 dentro del conjunto lineal 300 permite el transporte más eficaz de las cubetas a través del nefelómetro debido a que pueden ser tratadas en serie y recibidas por el nefelómetro y medidas sin manipulación adicional de las cubetas.

El conjunto de cubeta/nefelómetro para medir la turbiedad funciona como se describe en las siguientes realizaciones. La cubeta 110 se sitúa dentro de la base 100 del nefelómetro. Las cubetas se colocan dentro de la base del nefelómetro ya sea automática o manualmente. Haciendo referencia a la figura 5, el fluido de suspensión inicial (exento de microorganismos) se pone dentro de la cubeta 100. El volumen de fluido es de aproximadamente 200 μL a aproximadamente 500 μL . Preferiblemente, el volumen del fluido de suspensión inicial es de aproximadamente 300 μL . Se puede añadir fluido adicional a la cubeta si se necesita dilución para obtener los valores de McFarland especificados. A continuación, se añade a la cubeta 110 una muestra biológica sospechosa de contener microorganismos y se mezcla con el fluido de suspensión para producir una suspensión de muestra de ensayo. El aparato descrito en esta memoria mide la turbiedad inicial de la muestra de ensayo y se registra el valor de McFarland. La suspensión de muestra es diluida más añadiendo fluido de suspensión adicional si las lecturas de turbiedad iniciales son demasiado altas. En una realización la dilución está automatizada. La porción superior permite que el volumen del fluido de suspensión exceda del volumen de la porción inferior. El aparato mide la turbiedad de la suspensión diluida. Una vez obtenido el valor de McFarland predeterminado, la suspensión es ya sea tratada para ensayo aguas abajo, almacenada o desechada. La suspensión puede ser diluida tantas veces como sea necesario para obtener los valores deseados de McFarland.

Una luz procedente de la fuente 130 interroga la suspensión 120 (por ejemplo, muestra ensayada) dispuesta dentro de la cubeta 110. Se hace referencia en esta memoria a la luz que incide sobre la superficie (por ejemplo, la pared lateral plana de la cubeta/vaso) como la luz incidente. Se hace referencia aquí a luz que es dispersada por las partículas de la suspensión 120 como la luz dispersada. Una parte de la luz incidente es reflejada por la superficie de la cubeta. La luz refractada o transmitida es la parte de la luz incidente que es transmitida a través de la superficie (por ejemplo, la pared lateral plana de la cubeta/vaso).

En funcionamiento, la luz transmitida es recibida por el detector 150 de luz transmitida. En realizaciones ejemplares, el detector 150 de luz transmitida está situado en la trayectoria de la luz incidente para hacer máxima la detección de la luz transmitida a través de la suspensión. En casos en los que la superficie del detector 150 es altamente reflectante, el detector 150 puede estar situado de tal manera que la superficie del detector se sitúe según un pequeño ángulo (no de 90 grados) con respecto al eje de la trayectoria de la luz. Colocando el detector 150 según cierto ángulo se optimiza la detección de la luz transmitida sin reflejar la luz en retorno hacia la suspensión 120 o dirigir la luz hacia otras partes del nefelómetro. La intensidad de la luz captada por el detector es proporcional a la turbiedad de la suspensión.

Un filtro 160 de atenuación de luz se sitúa directamente frente al detector 150 de luz transmitida. El filtro reduce la intensidad de la luz incidente sobre el detector en una magnitud que es proporcional a la del haz incidente. En las realizaciones de ejemplo, el filtro permite que el detector 150 funcione sin saturación y proporcione al detector suficiente anchura de banda de intensidad de luz funcional para detectar variaciones de luz en la intensidad de la luz transmitida.

El aparato de acuerdo con la presente invención mide también la cantidad de luz dispersada. El detector de dispersión 140 se sitúa con su superficie de detección paralela a la trayectoria de la luz incidente y a lo largo de un lado de la cubeta. Partes de la luz que se hacen pasar a través de la muestra de suspensión son dispersadas por las partículas en suspensión. El detector lateral 140 de dispersión recoge algo de la luz dispersada. La cantidad de luz dispersada que recoge el detector 140 proporciona una señal que es proporcional a la cantidad de partículas en la suspensión ensayada 120. Un modo de medir la turbiedad de la suspensión 120 es tratar la cantidad de luz dispersada captada por el detector 140 de dispersión a través de varios algoritmos bien conocidos en la técnica. Los datos captados por el detector 140 de dispersión pueden ser combinados con los datos obtenidos por el detector de transmisión 150 de varias maneras. Por ejemplo, las señales pueden ser físicamente combinadas o los valores del detector manipuladas matemáticamente para combinarlas de un modo que mejore más la exactitud y la fiabilidad de las señales iniciales. Las señales o valores de datos pueden ser combinados aditiva, subtractiva o diferencialmente, etc. para proporcionar una señal resultante que sea representativa de las señales combinadas. Cuando las señales de valores del detector se combinan de este modo, es posible mejorar la resolución y exactitud de los datos recogidos para la medición de la turbiedad. Ventajosamente, los datos recogidos por dos detectores separados (datos de dispersión y transmitancia) pueden proporcionar resultados más exactos para muestras de pequeño volumen. La medición doble es ventajosa en aquellas realizaciones en las que no es suficiente una medición de la dispersión. Aunque los solicitantes no desean adherirse a una teoría particular, en opinión de los solicitantes la medición de producciones tanto de luz transmitida como dispersada es más exacta debido a la longitud limitada de la trayectoria de luz a través del pequeño volumen de la muestra.

En las realizaciones ejemplares, el detector 140 de dispersión y el detector 150 de transmitancia son detectores estándar de foto-diodo de alta eficacia. Sin embargo, se pueden utilizar también otros detectores que tengan características similares. Detectores apropiados incluyen los que operan a través del espectro de luz visible desde el ultra-violeta (UV) al Infra-rojo (IR). Detectores apropiados pueden ser seleccionados en base a sus curvas de respuesta lineales, el tamaño y la capacidad de reproducción de resultados, y la capacidad para operar/detectar trayectorias de luz dentro de condiciones de baja luz y detectar variaciones minúsculas de la intensidad de la luz con resolución medible. Los ejemplos incluyen foto-diodos, tubos foto-multiplicadores, detectores de avalanchas, células solares, foto-resistencias, foto-sensores, etc. Tales detectores están disponibles comercialmente, son bien conocidos por un experto en la técnica y no se describen con detalle en esta memoria.

En las realizaciones ejemplares, la fuente de luz es un diodo de emisión de luz (LED) de elevada intensidad o un diodo de láser. Preferiblemente, la frecuencia de la luz del LED es de aproximadamente 650 nm. Preferiblemente, la longitud de onda de la luz del detector está dentro de la banda del color rojo (es decir, de aproximadamente 620 a 750 nm). Sin embargo, la persona experta podría usar luz de interrogación de diferentes frecuencias de luz visible. Opcionalmente, se utiliza una lente de enfoque 170 (figura 1B) para enfocar la luz en un haz estrecho (por ejemplo un haz que tiene un diámetro de aproximadamente 3 mm). La lente de enfoque 170 se sitúa frente a la fuente de luz 130. El uso de una lente de enfoque 170 concentra la luz procedente de la fuente de luz 130 dentro de la zona de muestra 410 del vaso/cubeta y minimiza la cantidad de luz que puede ser dispersada desde la zona de ensayo. Un experto en la técnica sabe que una luz que es dispersada fuera de la zona de ensayo (es decir, la porción inferior 410 de la cubeta) hace la dispersión inutilizable para la finalidad de medir la turbiedad de la muestra debido a la elevada señal de fondo. La luz enfocada pasa entonces desde la lente de enfoque 170 (no mostrada) a la porción inferior 410 de la cubeta según un ángulo perpendicular a la cara de la cubeta. El ángulo perpendicular mitiga la difracción y la refracción no deseadas que se producen cuando un haz de luz pasa de un medio (por ejemplo aire) a otro medio (por ejemplo lados de superficiales planas de una cubeta). La trayectoria del haz de luz enfocado se mantiene cuando se transmite la luz a través de la suspensión hacia los detectores 140 y 150. En las realizaciones donde la fuente de luz es un diodo de láser, pueden no ser necesarias lentes adicionales para enfocar el haz de luz. Esto es debido en parte a las propiedades del láser que proporcionan luz colimada y enfocada para interrogar la suspensión. Se usa una lente de enfoque o una serie de aberturas en los ambientes donde la fuente de luz es un LED y se desea o se necesita colimación o enfoque de la luz.

La figura 3 ilustra el conjunto de cubetas/receptáculos en serie para usar con una realización del aparato de la presente invención. El conjunto de cubetas en serie es una tira o banda de cubetas en serie que es movida a lo largo de un canal de guía 220. Una fuente 130 de luz de LED se sitúa en un lado del canal de guía 220 que dirige la tira 300. La tira 300 se acopla de manera deslizable a los canales 220. La tira 300 incluye también montantes separadores u otras estructuras 530 (figura 6) para cómodo apilamiento, empaquetado y transporte. La tira 300 es hecha avanzar a través de nefelómetro y las cavidades 320 de las cubetas se sitúan entre la fuente de luz 130 y los detectores 140 y 150 (no mostrados) para tratamiento. Después de completarse el tratamiento, la tira lineal 300 puede ser indexada y hecha avanzar hasta la siguiente cubeta y el tratamiento continúa en las siguientes muestras usando el mismo nefelómetro. La tira 300 de cubetas puede ser almacenada o desechada basándose en las necesidades de usuarios individuales. En esta realización, está diseñado un único nefelómetro para tratar eficazmente múltiples muestras sin la necesidad de retirar cubetas individuales y sustituirlas por nuevas cubetas. La tira lineal 300 de cubetas puede ser diseñada con varias formas, tamaños y configuraciones de cubetas. Por ejemplo, las cavidades 320 de la tira 300 pueden ser diseñadas para que sean más o menos profundas, más anchas, más estrechas, más largas, más cortas, etc., dependiendo del diseño de cubeta. Además, las cavidades pueden estar unidas entre sí a través de cavidades individuales o estar insertadas en las cavidades situadas próximas entre sí.

En una realización, las tiras de cubetas son apilables y pueden estar separadas ya sea en cubetas individuales o formar una tira lineal de cubetas, dependiendo de la configuración del nefelómetro. Esta realización se muestra en la figura 6. Allí las cubetas 500 están soportadas en una placa perforada 510. La placa perforada 510 tiene una superficie plana de la cual están suspendidas las cubetas. La superficie plana está marcada (no mostrado) para permitir que las cubetas estén separadas en cubetas individuales o tiras de cubetas. Las cubetas apilables tienen montantes separadores 530 como se ha descrito anteriormente. Obsérvese que, para facilitar el apilamiento, la porción inferior 540 de la cubeta 500 está recibida por la porción superior 550, más ancha.

La figura 2 ilustra una realización en la que se hacen avanzar las cubetas a través del nefelómetro en serie. El sistema está diseñado para usar con una serie de cubetas que se hacen avanzar a través del nefelómetro de una manera continua. Las cubetas individuales 110 pueden ser colocadas directamente dentro de la base 100 del nefelómetro colocando la porción inferior de la cubeta en el canal 220 como se muestra en la figura 2B. Alternativamente, los vasos individuales 110 puede ser colocados primeramente dentro del conjunto lineal 300 de vasos y el conjunto lineal 300 (figura 3A), que aloja múltiples vasos, se puede colocar dentro del nefelómetro por el paso a través del canal 220. Después que los recipientes se sitúan dentro de la base del nefelómetro ya sea individualmente o dentro del conjunto lineal, se prepara la suspensión en la cubeta y se mide la turbiedad como se ha descrito anteriormente.

El sistema que aloja un conjunto lineal de vasos (figura 2) incluye también una fuente de luz 130, una lente de enfoque 170, un detector de dispersión 140, un detector 150 de luz transmitida y un filtro 160 de atenuación de luz (figura 1B como se ha descrito anteriormente). La cubeta 110 con una muestra 120 se sitúa en el centro del aparato y dentro de la base 100 del nefelómetro. La fuente de luz 130, el detector de dispersión 140 y el detector de luz transmitida 150 se sitúan, con un ángulo de 90 grados entre ellos, alrededor de la cubeta 110 como se ha descrito anteriormente. La superficie lateral del detector de dispersión 140 se sitúa paralela al haz incidente procedente de la fuente de luz 130. Colocando el detector de dispersión 140 dentro de la estrecha proximidad a la muestra ensayada 120 y paralelo a la fuente de luz incidente, se minimizan los efectos de difracción, refracción y reflexión sobre la luz dispersada. El detector de luz transmitida 150 está situado opuesto a la fuente de luz 130 y la luz incidente procedente de la fuente de luz se propaga hacia el detector de luz transmitida. El detector 150 puede estar también situado ya sea perpendicularmente a la trayectoria de la luz incidente o a unos pocos grados de la perpendicular para reducir los efectos de reflexión desde sus superficies. El filtro de atenuación de luz 160 está situado entre la cubeta 110 y el detector de luz transmitida 150.

La figura 7 es una sección transversal de un nefelómetro que muestra la trayectoria para la luz transmitida a través de la porción inferior 540 de la cubeta 500. La fuente de luz (570, figura 9) es recibida por una abertura 575 en un lado del receptáculo de cubeta 580 del nefelómetro 590. La abertura 575 recibe la fuente de luz. El sensor 600 (figura 9) está situado en una abertura 605 directamente opuesta a la abertura 575, con la porción inferior de la cubeta 540 situada entre ellas. El nefelómetro tiene una tapa 620.

La figura 8 es una sección transversal de un nefelómetro que muestra la trayectoria para la luz dispersada a través de la porción inferior 540 de la cubeta 500. La fuente de luz (570, figura 9) está en un lado del receptáculo de cubeta 580 del nefelómetro 590. El sensor 630 (figura 10) está situado en una abertura 635 ortogonal a la fuente de luz 570, con la porción inferior de la cubeta 540 situada entre ellas.

La figura 9 es una sección transversal de un nefelómetro que muestra la trayectoria para la luz transmitida a través de la porción inferior 540 de la cubeta 500. La fuente de luz 570 está recibida en una abertura 575 en un lado del receptáculo de cubeta 580 del nefelómetro 590. Entre el sensor 600 y la cubeta 500 está un filtro 640 de atenuación de luz que está situado frente al detector de transmitancia para disminuir la intensidad de luz a un nivel utilizable para no saturar al sensor. La abertura 575 recibe la fuente de luz 570 de la lente 650 para enfocar la señal óptica. El sensor 600 está situado en una abertura 605 directamente opuesta a la abertura 575, con la porción inferior de la cubeta 540 situada entre ellas.

La figura 10 es una vista en perspectiva del nefelómetro 590 que muestra la abertura 575 para la fuente óptica 570, la abertura 635 para el sensor de luz dispersada y a abertura 605 para el sensor de luz transmitida.

5 En una realización, la muestra se dispone dentro de una cubeta y es tratada individualmente cuando se coloca en el nefelómetro. Después de tratada la muestra y haber sido obtenidos valores de McFarland, se retira la cubeta del nefelómetro y se sustituye por una nueva cubeta. En esta realización, el uno o más nefelómetros son hechos funcionalmente independientes. En una realización alternativa, el nefelómetro está configurado para suministrar una serie continua de cubetas al nefelómetro para medición. Un canal 220 para cubetas lineal recibe una tira 300 de cavidades 320 para cubetas individuales (figura 3B). La tira es conducida a través del nefelómetro, deteniéndose para que cada cubeta sea ópticamente interrogada para medición, como se describe con detalle en cualquier otro lugar de esta memoria.

10 Los métodos de medir la turbiedad de acuerdo con la presente invención están automatizados. Los datos recogidos de las mediciones pueden ser tratados adicionalmente para generar resultados significativos. En estas realizaciones, las señales procedentes de los detectores son alimentadas a amplificadores de señal. La salida del amplificador es comunicada a un circuito convertidor de analógico en digital que da salida a una representación digital de la señal de entrada que es a continuación tratada usando varios algoritmos para determinar si el valor medido es el valor objetivo. Si el valor medido es mayor que el valor objetivo, entonces se diluye la muestra como se ha descrito anteriormente, y se vuelve a medir la turbiedad. Tal repetición de la medición puede ser hecha manualmente por un operario o de una manera automática en la que la cubeta es transferida fuera del nefelómetro para dilución y transportada de nuevo al nefelómetro para una medición más. Los métodos para tratar la señal convirtiéndola en una salida utilizable se desarrollan usando diluciones variables de varias muestras biológicas y no biológicas y que asocian valores de McFarland con las concentraciones de la suspensión. Estos datos son a continuación usados para producir conjuntos de datos que son analizados adicionalmente usando algoritmos que corrigen la linealidad y desplazamientos de las curvas de datos para producir un valor de salida representativo de un valor de turbiedad y comparado con el valor objetivo. Este proceso es repetido hasta que se obtiene la turbiedad objetivo.

25 Aunque la invención descrita en esta memoria ha sido descrita con referencia a realizaciones particulares, se ha de entender que estas realizaciones ilustran los principios y aplicaciones de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un aparato para la interrogación óptica de una muestra, que comprende:
 - 5 una fuente de luz (130) para una señal óptica; una cubeta (110); una base (100) que tiene un receptáculo (580) de cubeta en la misma; un primer detector de luz (150) para detectar la luz transmitida, situado en una abertura de la base para recibir la señal óptica transmitida directamente a través de la cubeta (110) recibida por el receptáculo (580) de cubeta, en el que la cubeta (110) comprende una porción inferior (410), más estrecha, que comprende una pluralidad de paredes laterales planas, formando cada pared lateral un cierto ángulo con respecto a una pared lateral adyacente, y una porción superior (400), más ancha, que comprende una pluralidad de paredes laterales planas, formando cada pared lateral un cierto ángulo con la pared lateral adyacente, teniendo la porción superior (400), más ancha, un perímetro mayor que el perímetro que la porción inferior (410), más estrecha, estando además la base adaptada para colocar la cubeta (110) de tal manera que la fuente de luz (130) se sitúa para transmitir una señal óptica transmitida directamente a través de la pared lateral plana de la porción inferior (410), más estrecha, de la cubeta; y
 - 10 un segundo detector de luz (140) para detectar luz dispersada, situado para recibir la señal óptica procedente de la fuente de luz (130), dispersada por el contenido de la porción inferior (410) de la cubeta (110), estando la superficie del segundo detector situada aproximadamente paralela a una trayectoria óptica procedente de la fuente de luz hacia el primer detector;
 - 15 en el que la fuente de luz, el primer detector de luz y el segundo detector de luz están dispuestos en aberturas (575, 605, 635) de la base (100).
- 20 2. El aparato de la reivindicación 1, que comprende además:
 - un canal (220) configurado para hacer avanzar una serie lineal de cubetas (110, 300), siendo hecha avanzar cada cubeta (110) en serie hacia una posición de medición en la que la porción inferior (410) de la cubeta (110) está adyacente a la fuente de luz (130), al primer detector de luz (150) y al segundo detector de luz (140) para medición.
- 25 3. El aparato de la reivindicación 2, en el que el aparato es un nefelómetro (590).
4. El aparato de la reivindicación 1, en el que el aparato está configurado para recibir un conjunto de cubetas (300) configurado como un a tira de la cual está suspendida la porción inferior de las cubetas.
5. El aparato de la reivindicación 1, en el que la fuente de luz (130) se selecciona de un grupo que consiste en una fuente de luz de láser y un LED:
- 30 6. El aparato de la reivindicación 1, en el que el aparato es un espectrómetro.
7. El aparato de la reivindicación 1, en el que el aparato es un nefelómetro (590).
8. El aparato de la reivindicación 1, que comprende además un filtro (160) de atenuación de luz situado entre la cubeta y el primer detector de luz (150).
- 35 9. El aparato de la reivindicación 1, que comprende además uno de entre una lente de enfoque (170), una abertura (575) o una serie de aberturas situadas en posición intermedia entre la fuente de luz (130) y la porción inferior (410), más estrecha, de la cubeta (110), y opcionalmente en el que la lente de enfoque (170), la abertura (575) o serie de aberturas coliman la luz transmitida a través de ellas.
10. El aparato de la reivindicación 1, en el que los detectores de luz primero y segundo (150, 140) están situados formando entre ellos un ángulo de 90 grados.
- 40 11. El aparato de la reivindicación 1, en el que los detectores de luz primero y segundo (150, 140) operan a través de un espectro de luz visible desde el ultra-violeta (UV) al Infra-rojo (IR).
12. El aparato de la reivindicación 11, en el que una longitud de onda de luz detectada por los detectores de luz primero y segundo está en un intervalo de aproximadamente 620 a aproximadamente 750 nm.
13. El aparato de la reivindicación 1, en el que la cubeta es ópticamente transparente.
- 45 14. Un método para medir una turbiedad de una muestra, que comprende:
 - proporcionar una cubeta (110) con una muestra (120) dispuesta en ella para a un aparato nefelométrico (590), comprendiendo la cubeta (110) una porción inferior (410), más estrecha, y una porción superior (400), más ancha, teniendo la porción superior más ancha (400) un perímetro mayor que el perímetro de la porción inferior (410) más estrecha, en el que la porción inferior más estrecha y la porción superior más

- ancha comprenden cada una de ellas una pluralidad de paredes laterales planas, formando cada pared lateral un cierto ángulo con respecto a la pared lateral adyacente, comprendiendo además la cubeta una porción en estrechamiento desde la parte superior más ancha a la porción inferior más estrecha, teniendo la cubeta (110) la muestra (120) para inspección dispuesta en al menos la porción inferior más estrecha (410);
- 5 recibir la cubeta en una base (100) que posiciona la cubeta (110) de tal manera que una pared lateral plana de la porción inferior más estrecha de la cubeta está situada en una trayectoria óptica definida por una abertura o serie de aberturas desde una fuente de luz (130) dispuesta para emitir luz dirigida solo a la porción inferior más estrecha (410) de la cubeta (110);
- transmitir luz desde la fuente de luz (130) hacia la porción inferior más estrecha (410) de la cubeta (110);
- 10 detectar una señal óptica utilizando un primer detector (150) situado para recibir una señal óptica transmitida directamente a través de la muestra (120) en la porción inferior (410) de la cubeta (110) recibida por la base (100), y un segundo detector (140) situado para recibir una señal óptica dispersada por la muestra (120) en la porción inferior (410) de la cubeta (110), teniendo el segundo detector (140) una superficie situada aproximadamente paralela a una trayectoria óptica desde la fuente de luz (130) hasta el
- 15 primer detector (150).
15. El método de la reivindicación 14, en el que la cubeta (110) se sitúa en un conjunto de cubetas (300) y el conjunto de cubetas (300) se coloca en el aparato nefelométrico (590) de tal manera que se mide la turbiedad de la muestra (120) dispuesta en la porción inferior (410) de cada cubeta (110).
16. El método de la reivindicación 15, en el que el conjunto de cubetas (300) es una tira.
- 20 17. El método de la reivindicación 14, que comprende además colimar la luz dirigida hacia la porción inferior más estrecha (410) de la cubeta (110).

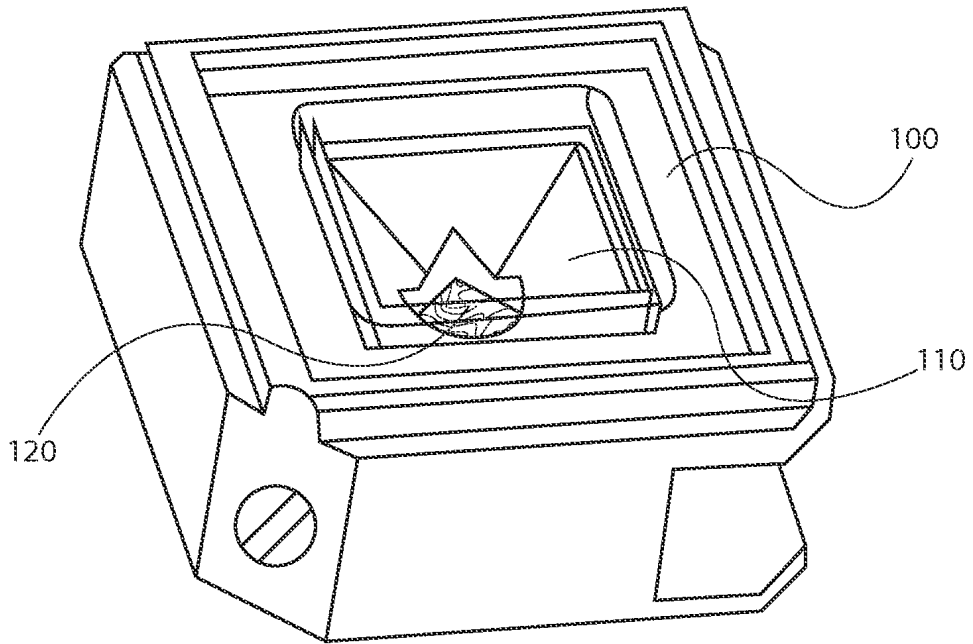


FIG. 1A

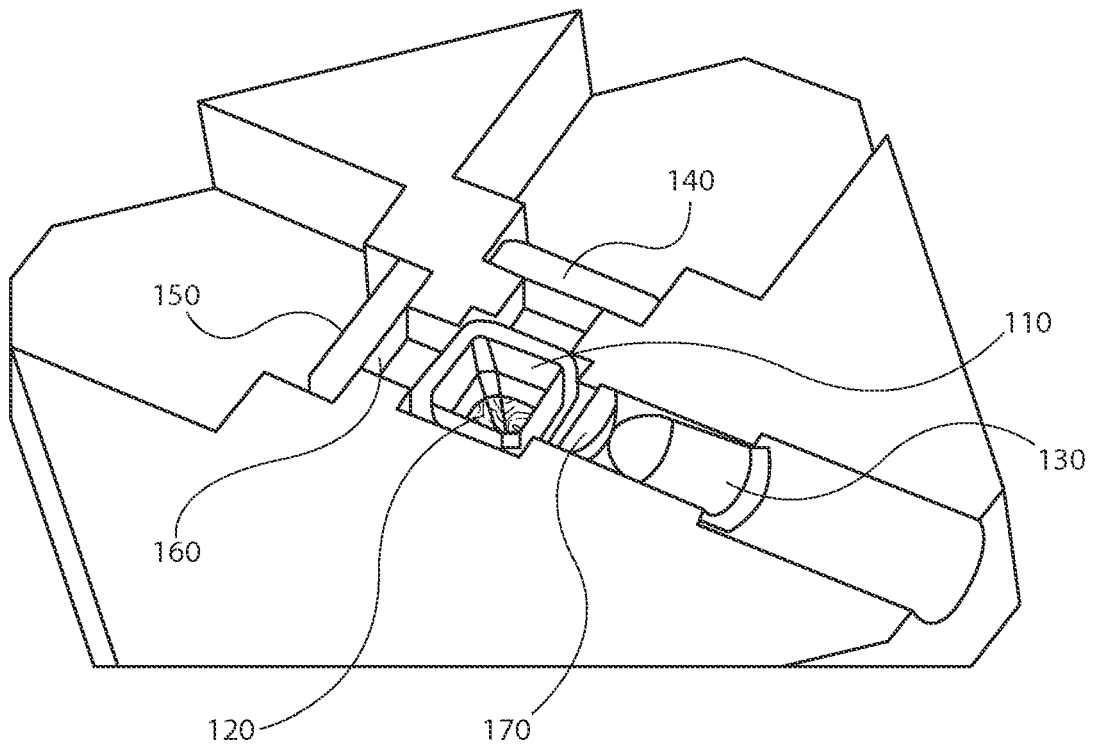


FIG. 1B

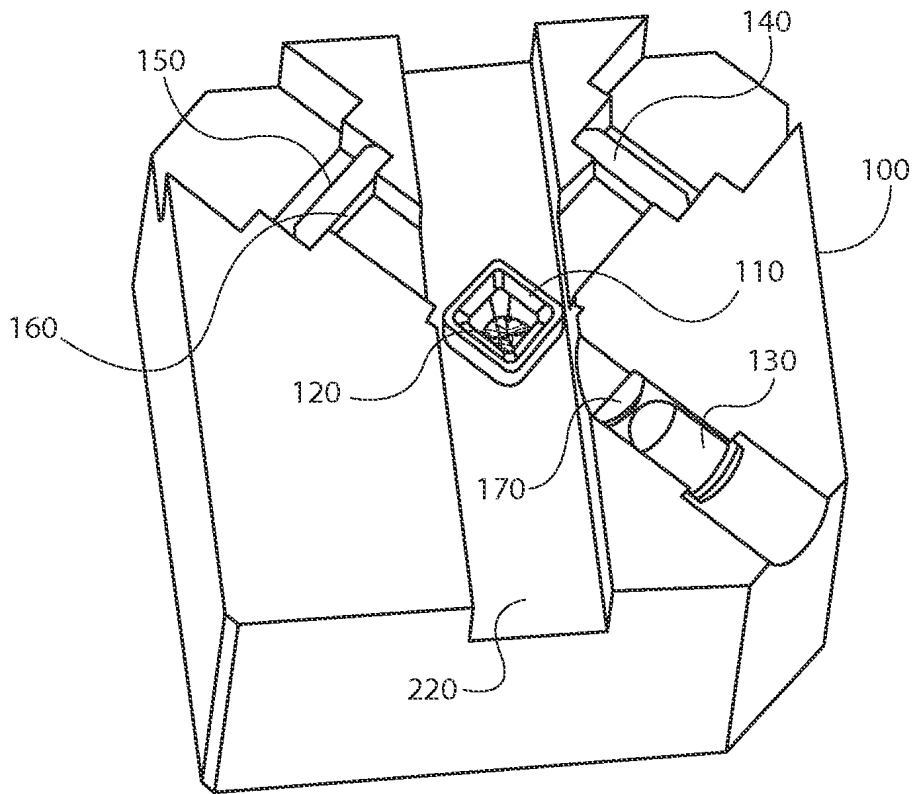


FIG. 2A

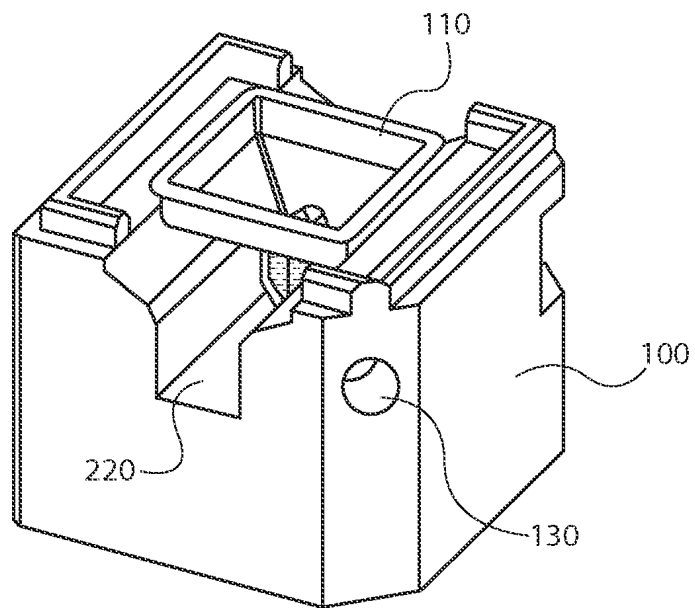


FIG. 2B

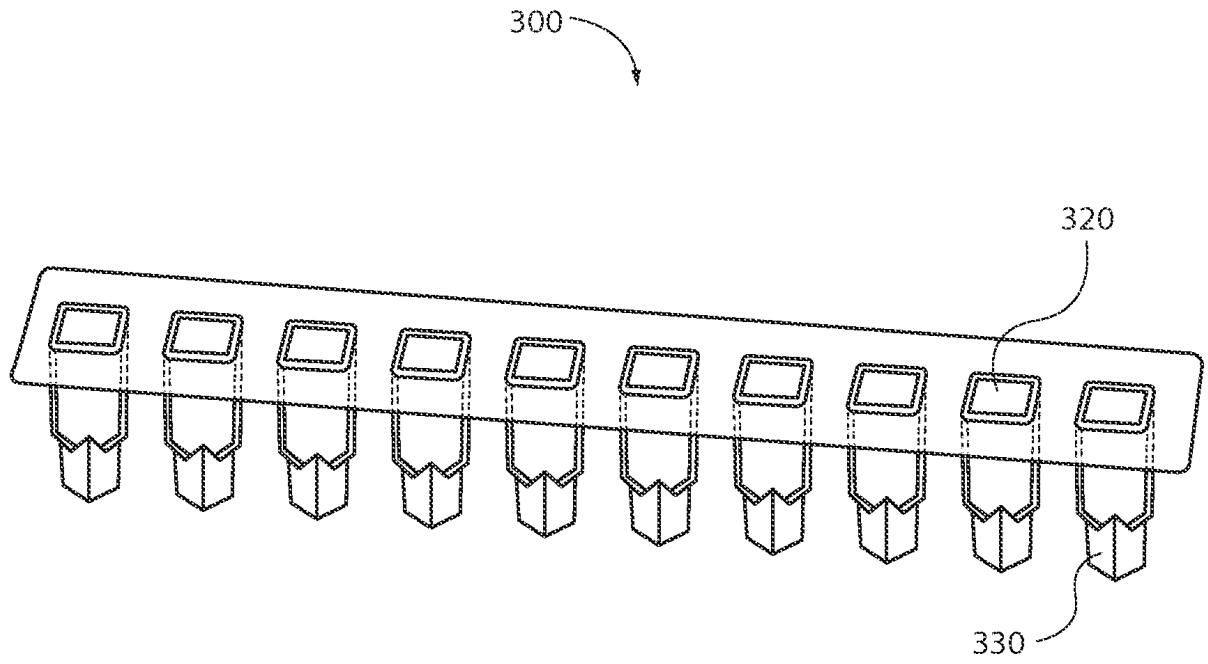


FIG. 3

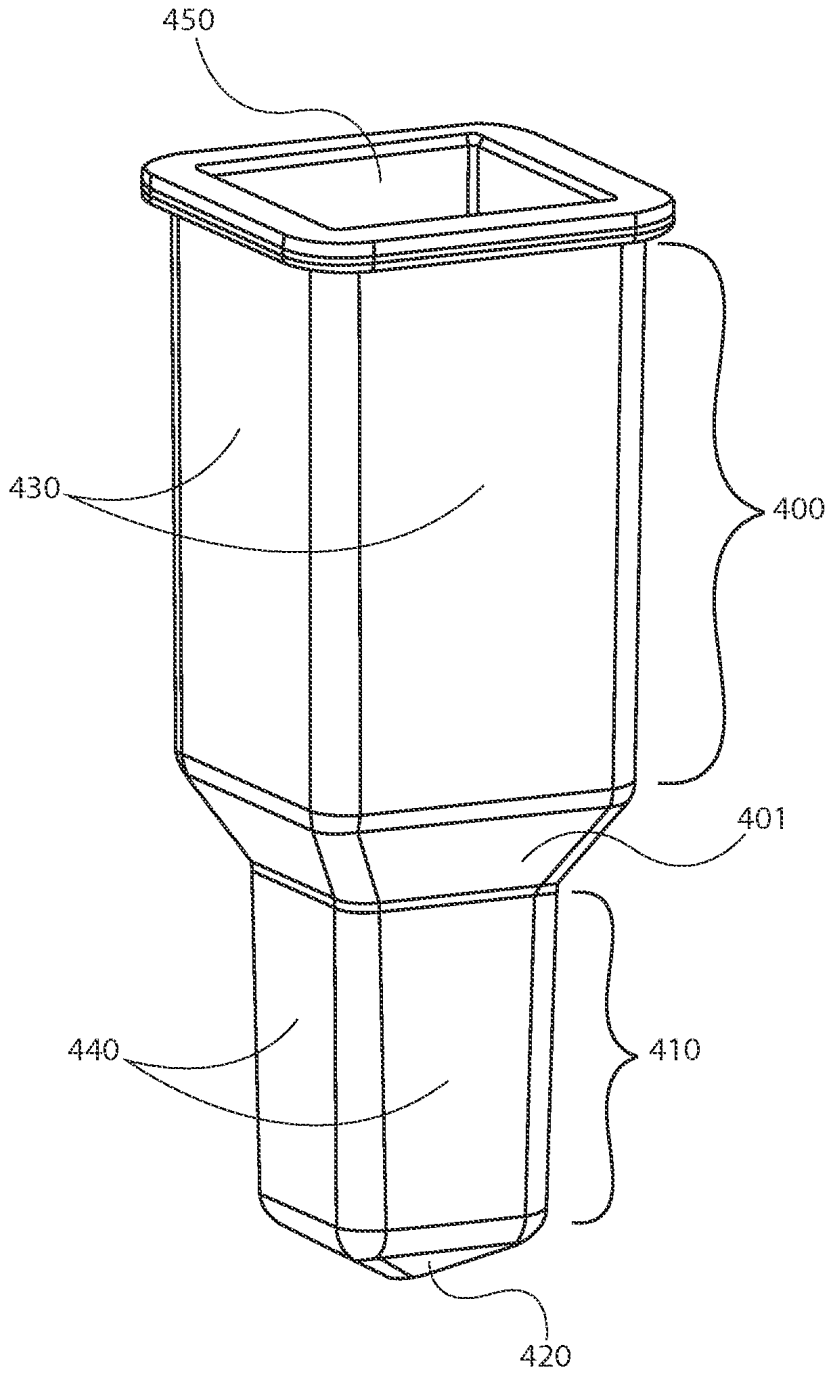


FIG. 4A

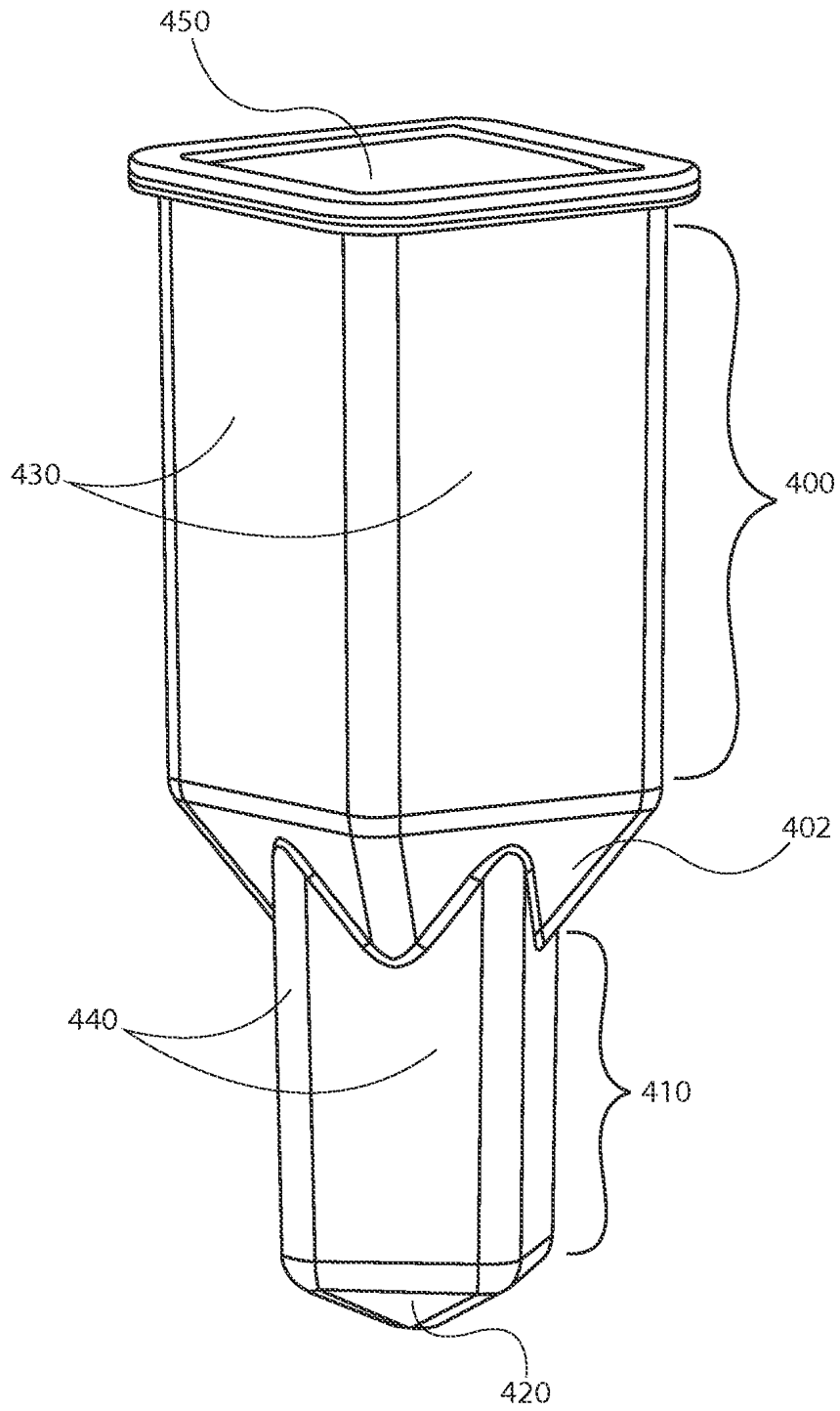


FIG. 4B

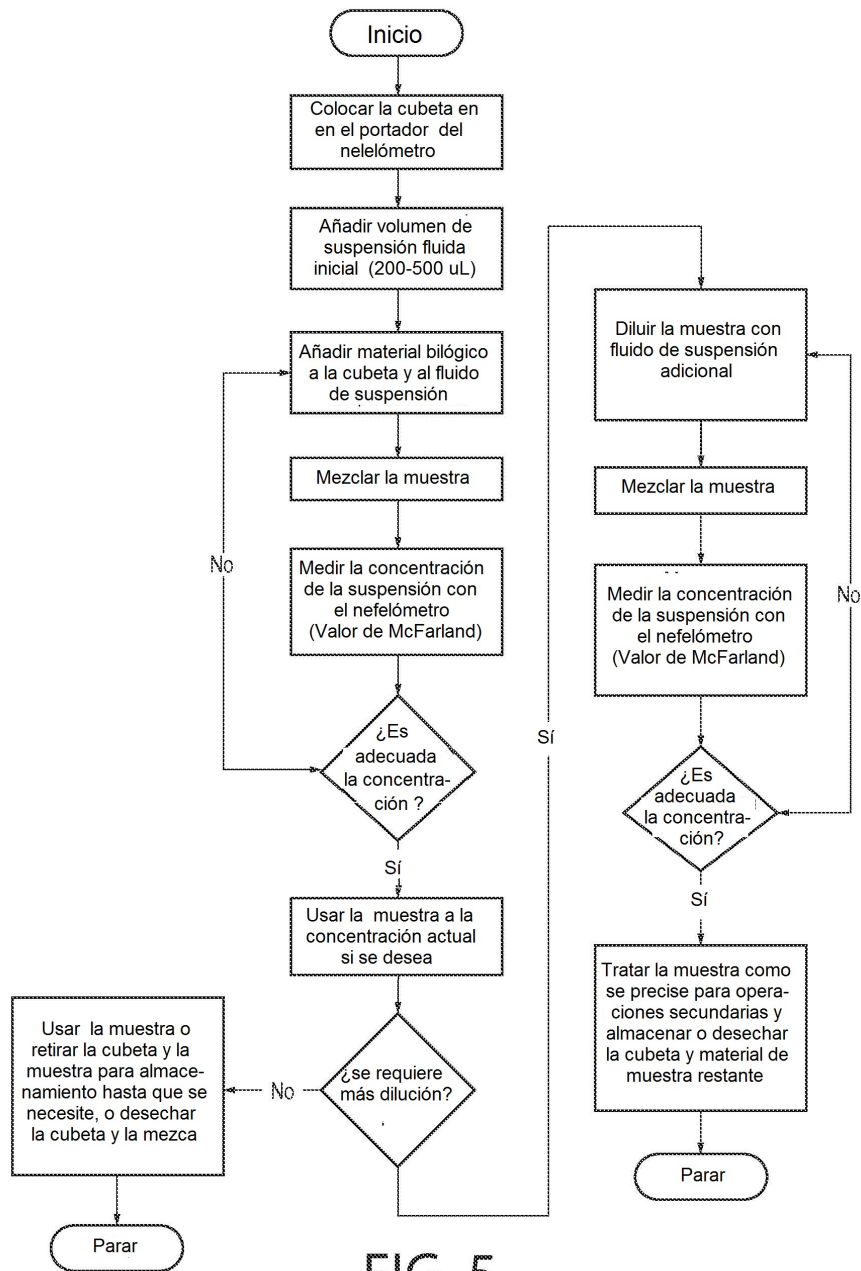


FIG. 5

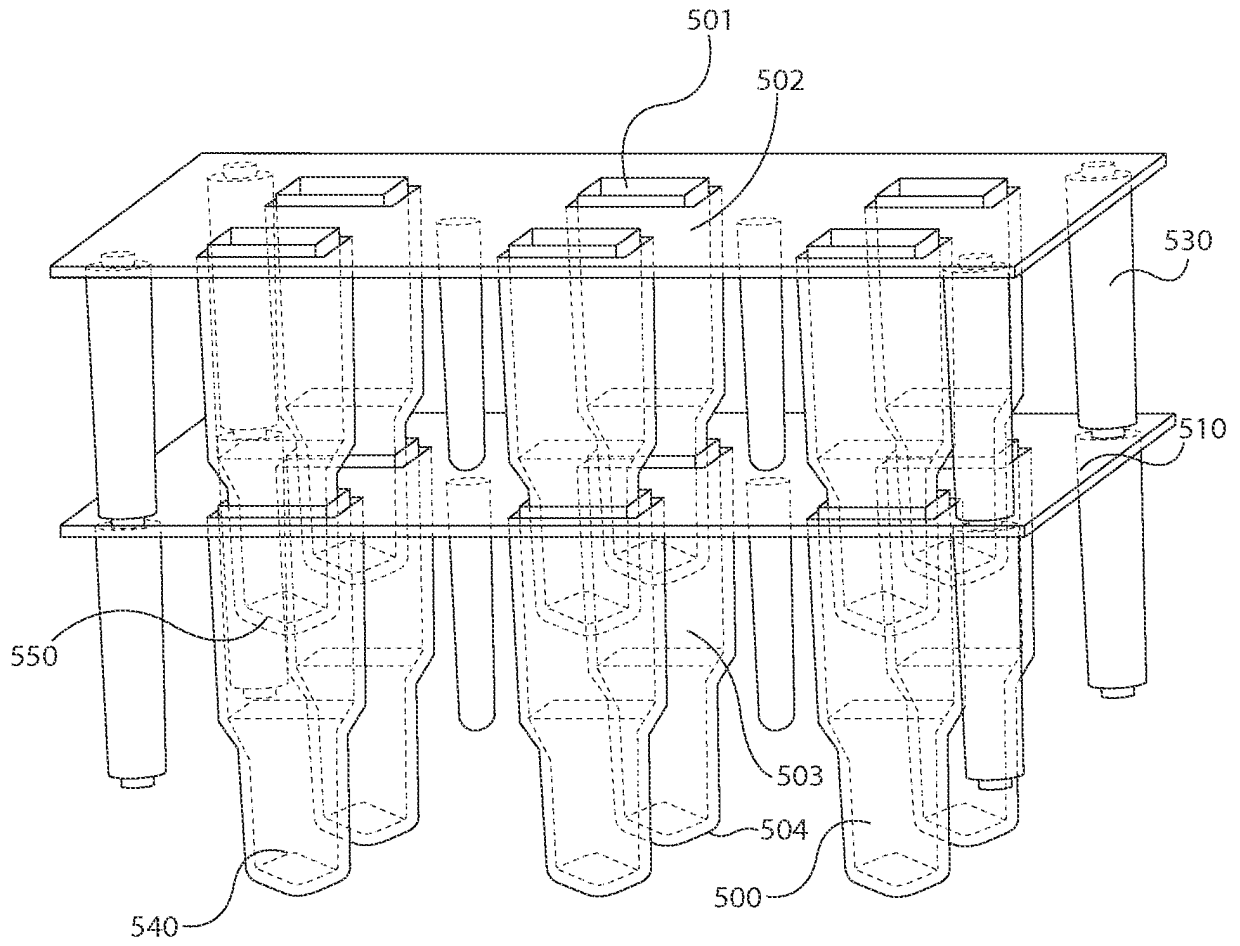


FIG. 6

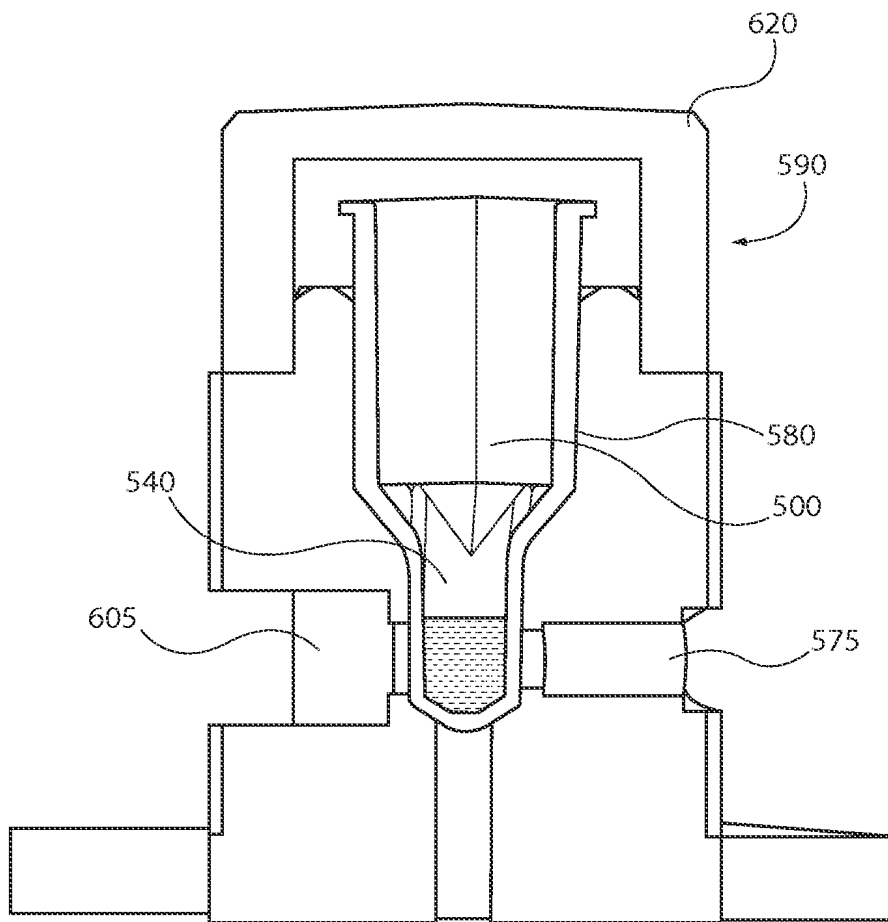


FIG. 7

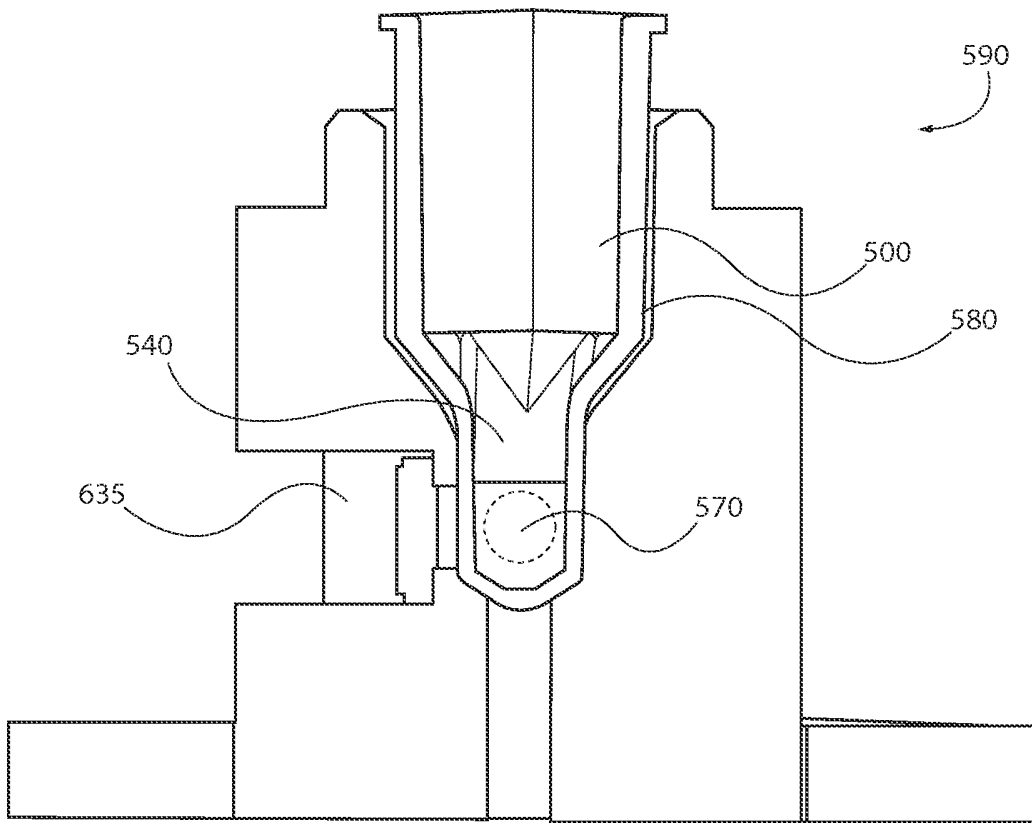


FIG. 8

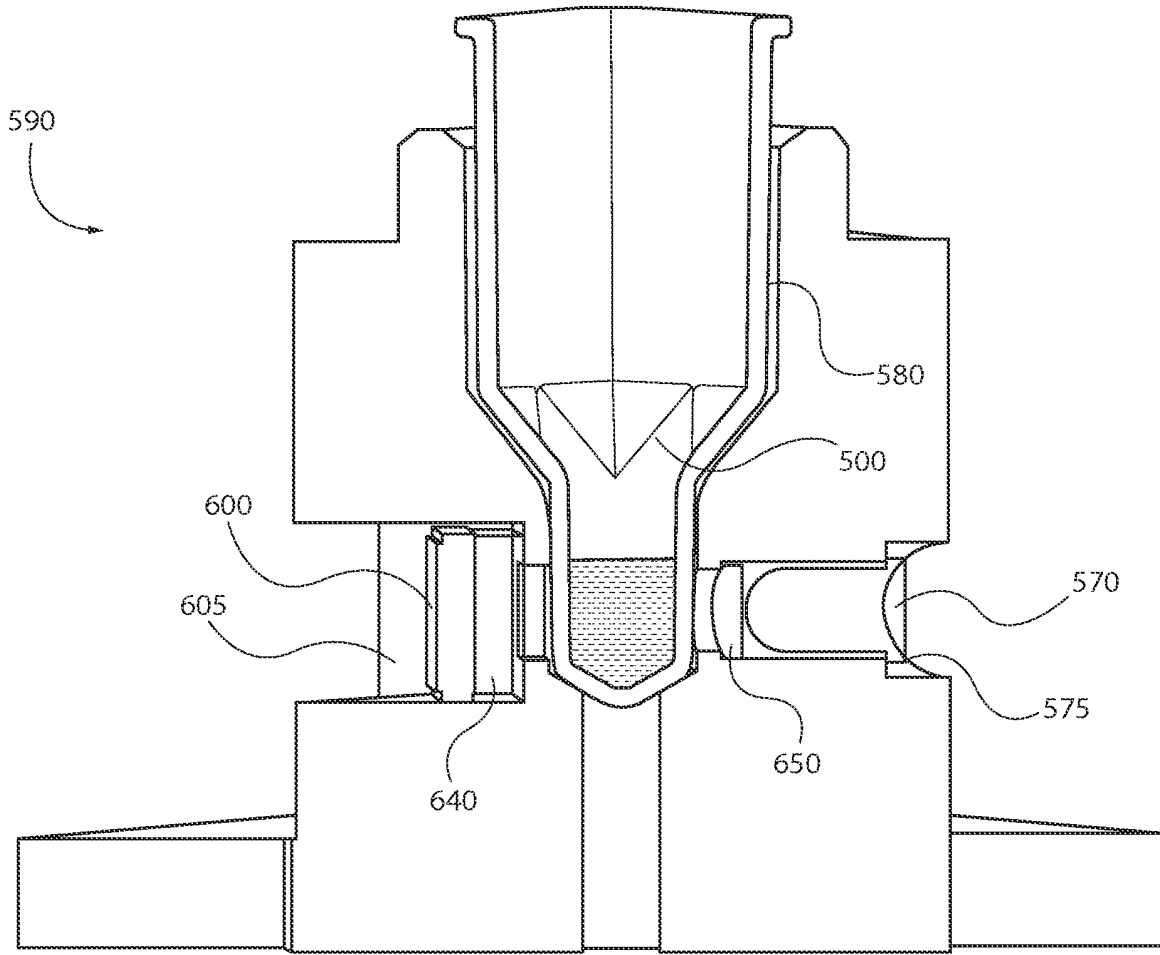


FIG. 9

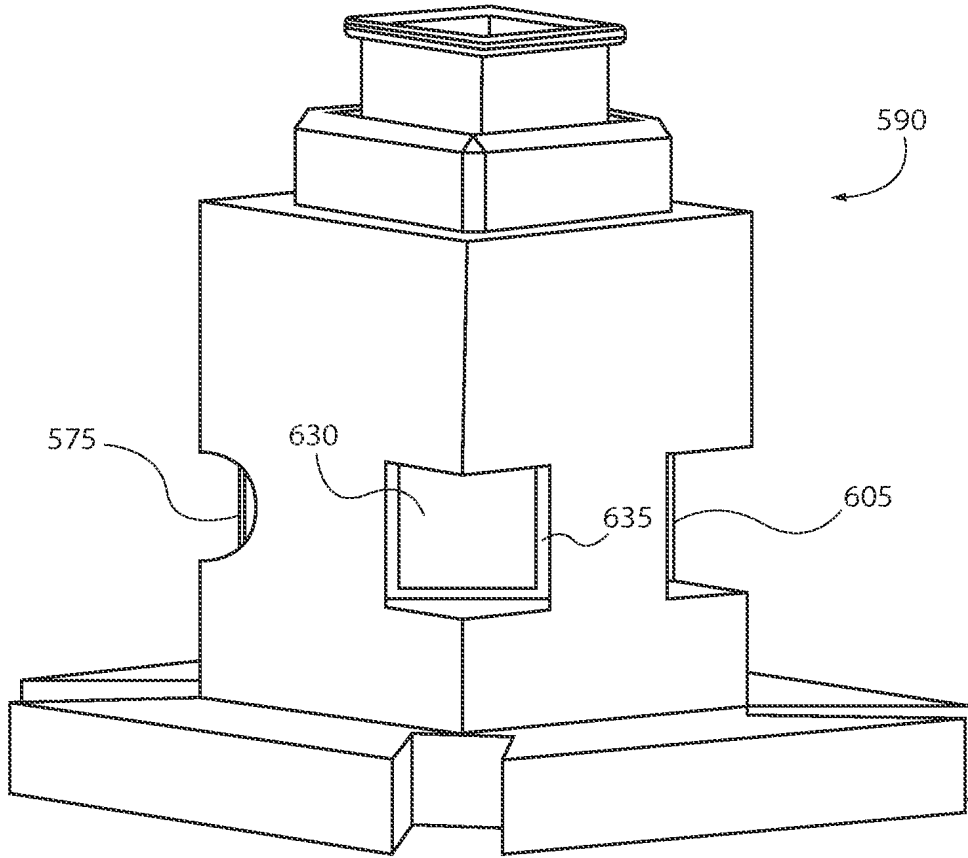


FIG. 10