



Int. Cl. G 0 1 N

407615

407615

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: COULTER ELECTRONICS LIMITED.

RESIDENCIA: High Street South, Dunstable,
Bedfordshire, Inglaterra.

ENUNCIADO: "UN METODO PARA LA CLASIFICACION
ELECTRONICA DE DIFERENTES TIPOS
DE PARTICULAS".

Prioridad: Patente estadounidense n.º 189.105 del 14-10-71.

407615

13 OCT 1952



1 Para acentuar la selectividad de la clasificación
electrónica de partículas que han de ser detectadas en un
campo electrónico que incluye una energización de alta fre-
cuencia y que emplea así la opacidad electrónica de las
5 partículas como base para su clasificación, tales partícu-
las son tratadas, por ejemplo, mediante un agente desinte-
grador, que determine el cambio de la opacidad electrónica
de ciertos tipos de partículas, en virtud de lo cual cada
tipo distintivo de partículas adquiere un nivel distintivo
10 de opacidad sujeto a detección electrónica. Puede obtener-
se una selectividad adicional excluyendo electrónicamente,
después del tratamiento y antes de la clasificación, todo
nivel de opacidad indeseado.

15 Esta invención se relaciona con la determinación
o medición de propiedades no eléctricas de partículas me-
diante la medición de propiedades eléctricas de las mismas,
y más particularmente con un método para incrementar la se-
lectividad de aparatos electrónicos que funcionan según
20 principios enseñados en patentes estadounidenses, tales co-
mo las de números 2.656.508, 3.259.842 y 3.502.974.

 Un equipo comercial que utiliza las enseñanzas
de las dos primeras patentes antes citadas es conocido en
todo el mundo bajo la marca comercial COULTER COUNTER y el
principio de su funcionamiento es comúnmente conocido por
25 principio Coulter. Aunque expuesto en las patentes anterior-
mente citadas Nos. 2.656.508 y 3.259.842, así como en mu-
chos documentos que aparecen en revistas y libros científi-
cos e industriales, será conveniente describir brevemente
30 el principio Coulter e indicar el uso limitado que se ha

407615 150018



1 dado al mismo en aparatos disponibles hasta la aparición
de la invención descrita y reivindicada en la patente n°
3.502.974.

5 De acuerdo con el principio de Coulter, cuando
se pasa una partícula de tamaño microscópico a través de
un campo eléctrico de pequeñas dimensiones, de un orden
próximo a los de la partícula, se produce un cambio momen-
táneo en la impedancia eléctrica en el ámbito del campo.
Si éste tiene una región uniforme recorrida por la partícu-
10 la, el cambio debido al paso de la partícula estará princi-
palmente en función del tamaño de ésta para la mayoría de
las partículas biológicas e industriales.

15 En los aparatos comerciales construidos de acuer-
do con dichas patentes Nos. 2.656.508 y 3.259.842, la exci-
tación del campo ha sido proporcionada por medio de fuentes
unidireccionales o de baja frecuencia. Los cambios aludidos
se limitan a los que tienen una relación con las partículas
que causan tales cambios identificada como basada solamente
en el tamaño de aquéllas. Tal relación ha resultado ser de
20 muy estrecha proporcionalidad, es decir, el cambio eléctri-
co causado por el paso de una partícula a través de un cam-
po eléctrico de pequeñas dimensiones excitado por una co-
rriente continua o de baja frecuencia es estrechamente pro-
porcional al tamaño o volumen de la partícula.

25 En consecuencia, en tales aparatos comerciales,
se pasan sistemas de partículas a través de dichos campos
a fin de producir los cambios eléctricos relacionados con
las características de impedancia debidas a los diferentes
tamaños de las partículas, siendo detectados los cambios
30 por algún medio adecuado y empleándose para operar contado-



407615

1 res y analizadores. Los analizadores asociados a tales aparatos clasifican y agrupan las partículas en poblaciones.

5 Según se desprende de la anterior descripción, el principal parámetro físico de las partículas, que afectaba a los cambios eléctricos producidos cada vez que una de aquéllas pasaba a través del campo eléctrico, era su tamaño. Esta situación se da en el caso de un campo eléctrico generado por una fuente de corriente continua, así como de baja frecuencia, puesto que a bajas frecuencias las reotancias de los cambios capacitivos son tan grandes que 10 de hecho son puestas en cortocircuito por las resistencias implicadas.

15 Tal como plenamente se describe en la patente n° 3.502.974, el efecto reactivo de la partícula, debido a la diferencia de características dieléctricas entre la partícula y el fluido de suspensión, no se manifestará hasta que el campo sea sometido a una energización de alta frecuencia. Se ha determinado que tal frecuencia es, en la mayoría de los casos, del orden de la denominada frecuencia 20 de radio.

25 La invención de la patente n° 3.502.974 difiere de su correspondiente arte anterior y mediante sus enseñanzas se han ampliado considerablemente las capacidades del principio Coulter para proporcionar no sólo información sobre el tamaño de las partículas estudiadas, sino también información relativa a la composición y naturaleza del material que constituye las partículas. En consecuencia, la patente n° 3.502.974 describe un aparato capaz de distinguir entre partículas de tamaño idéntico pero constituidas 30 por diferentes materiales.

407615



1 Generando el campo detector de las partículas me-
diante una excitación por corriente continua o de baja fre-
cuencia y por corriente de frecuencia de radio (f.r.), pue-
den derivarse dos o más señales de salida interrelaciona-
5 das del paso de una sola partícula a través del campo en el
ámbito de la apertura. Esto ocurre debido al hecho de que,
en tanto que las partículas en cuestión son casi siempre
aisladoras respecto a los campos de baja frecuencia o de
corriente continua, son capaces de transportar o impedir
10 corriente de frecuencia de radio diferentemente al electro-
lito circundante. Esto puede deberse a diferencias en la
constante dieléctrica, en el caso de partículas homogéneas,
o a la estructura a modo de saco de las partículas biológi-
cas, encerradas en una membrana extremadamente delgada, que
15 tiene un contenido de elevada capacitancia eléctrica por
unidad de área, de conductividades diferentes al electroli-
to. Así, mientras toda la corriente de baja frecuencia pa-
sa alrededor de una partícula, parte de la corriente de
frecuencia de radio pasa a través de ella. La facilidad con
20 que la corriente de frecuencia de radio pase a través de
una partícula constituirá una medida de lo que aquí se de-
nomina su "transparencia eléctrica" o simplemente "trans-
parencia", en analogía con la transmisión de la luz, en
tanto que la capacidad de una partícula para impedir el pa-
25 so de corriente de frecuencia de radio se denomina "opaci-
dad" u opacidad electrónica.

 La opacidad eléctrica relativa o, si se desea,
la transparencia eléctrica de una partícula, pasa a consti-
tuir un aspecto identificador del contenido de la partícu-
30 la; por consiguiente, su tipo de partícula a efectos de

407615



1 clasificación. En consecuencia, si se detectasen tres partí-
culas de igual tamaño y diferentes opacidades en un aparato
de acuerdo con las enseñanzas de la patente n° 3.502.874,
se detectarían tres diferentes señales de salida, cuyas di-
5 ferencias serían directamente proporcionales a las diferen-
tes opacidades.

En la medida en que diferentes tipos de partícula-
las posean diferentes opacidades y la diferencia entre ellas
sea detectable, las enseñanzas de la patente n° 3.502.974
10 no requieren ninguna ampliación. Sin embargo, no es éste el
caso. Algunas partículas notablemente diferentes poseen sus-
tancialmente la misma opacidad y no pueden clasificarse efi-
cazmente de acuerdo con las enseñanzas de dicha patente.

Para conseguir los objetos de esta invención y
15 vencer las deficiencias del arte anterior, las partículas,
antes de pasar al ámbito del campo electrónico dotado de
energización con corriente continua y con frecuencia de ra-
dio, son tratadas de manera que cambie la opacidad de un
tipo de partícula por lo menos respecto a la opacidad de
20 los otros tipos de partículas. En una forma preferida de la
invención, las partículas, tales como células sanguíneas,
son químicamente desintegradas para alterar su impedancia
interna, de tal manera que células rojas y blancas y/o di-
ferentes formas de células blancas adquieran unas opacida-
25 des detectablemente diferentes.

También se consigue el método de excluir partícula-
las situadas dentro de cualquier nivel de opacidad particu-
lar. En tal método, la amplitud de la curva de respuesta
de opacidad para el nivel seleccionado de ésta es electró-
nicamente retirada de su recepción por el equipo de clasi-
30 ficación.



407615

1 En consecuencia, esta invención proporciona, en
un método para la clasificación electrónica de diferentes
tipos de partículas, cuya clasificación tiene como una ba-
se la detección de la opacidad electrónica de las partícu-
5 las, la operación de someter todas las partículas a un me-
dio de tratamiento que actúa selectivamente sobre dichos
tipos diferentes de partículas cambiando notablemente la
opacidad electrónica de uno por lo menos de tales tipos de
partículas.

10 Seguidamente se describirán las versiones prefe-
ridas de esta invención, a modo de ejemplos, con referen-
cia a los dibujos que acompañan a esta memoria, en los cua-
les:

15 La figura 1 es una vista esquemática de un aparato
construido de acuerdo con las amplias enseñanzas de la
patente estadounidense n° 3.502.974.

La figura 2 es un gráfico de operaciones del mé-
todo en cuestión; y

20 La figura 3 es un gráfico que ilustra una curva
de respuesta de opacidad con niveles seleccionados de tal
respuesta.

25 En la figura 1 se muestra un tipo preferido de
aparato 1 analizador de partículas, que comprende un tubo
2 con abertura y un recipiente 3 destinado a contener una
masa de fluido 4 dotada de partículas suspendidas. El ex-
tremo del tubo 2 tiene una abertura microscópica 5 formada
30 en una oblea aislante 6. En el interior del tubo 2 hay una
masa de fluido 7, hallándose suspendido un electrodo 8 que
está conectado a las fuentes de corriente 9 y 10 y a una
estructura detectora 11. Un electrodo común 12 está suspen-

407615



1 dido en la masa de fluido 4 y conectado a las fuentes de
corriente 9 y 10 y al detector 11. Este último posee dos
canales electrónicos paralelos que tienen líneas terminales
13 y 14 para su conexión a las entradas de medios clasifi-
5 cadores, no mostrados.

El fluido 4 y las partículas se hacen pasar a
través de la abertura 5, como se indica por la trayectoria
15 15 señalada con línea discontinua, merced a una estructura
16 desplazadora de fluidos que está conectada al tubo 2.
10 Dicha estructura 16 puede comprender convenientemente un
dispositivo de manómetro-sifón. Para la mayoría de los fi-
nes, los fluidos 4 y 7 pueden ser iguales y comprender un
electrolito dotado de una impedancia diferente a la de las
partículas suspendidas.

15 La fuente de corriente 9 puede ser de corriente
continua, designada por f_1 , y la otra fuente de corriente
10 10 puede ser de frecuencia de radio, designada por f_2 . Com-
binadamente, definen un campo que se encuentra en la abertu-
ra 5 y estrechamente adyacente a la misma. Cada vez que una
20 partícula pasa a través del campo, que puede considerarse
también un campo detector, habrá un cambio en la impedan-
cia de este campo detector y habrá un componente de tal
cambio que sea atribuible a cada frecuencia. Estos compo-
nentes son separados en el detector 11 y se producen impul-
25 sos eléctricos cuyas respectivas amplitudes dependen de
los cambios causados por la partícula a la frecuencia par-
ticular, apareciendo en los terminales 13 y 14 de los ca-
nales. La referencia a una corriente continua no pretende
excluir una baja frecuencia; de igual modo, la frecuencia
30 de radio abarca a las frecuencias elevadas respecto a f_1 y

407615



1 a la respuesta de las partículas en cuestión.

Si, tal como se expone en la patente estadounidense n° 3.502.974, las partículas poseen unas opacidades razonablemente diferentes, el detector podrá diferenciar
5 un tipo de partículas de otro. La detección puede efectuarse sobre la base de que las diferencias de opacidad provocan cualesquiera diferencias de señales, o combinaciones de tales diferencias, que pueden detectarse, tales como diferencias de fases, diferencias de amplitud, diferencias
10 de frecuencia, etc. Sin embargo, si las partículas no poseen opacidades detectablemente diferentes, entonces es inalcanzable una clasificación basada en este parámetro, por lo menos a la vista del arte anterior.

De acuerdo con la presente invención y con referencia a la figura 2, antes de que las partículas sean pasadas a través del campo de detección, son sometidas a un
15 tratamiento merced al cual se altera la opacidad de un tipo por lo menos de partículas, de manera que su opacidad electrónica resulta mediblemente diferente de la opacidad de otros tipos de partículas que han de pasarse al campo de
20 detección. Aunque la figura 2 indica que el cambio de opacidad tiene lugar después de la formación de la suspensión de las partículas, tal secuencia no es necesariamente crítica. En muchos casos, las partículas pueden tratarse antes
25 de formarse la suspensión. En efecto, el tratamiento, se se realiza con un fluido adecuado, podría incluir también la formación de la suspensión.

Como ejemplo práctico, considérese la clasificación de una suspensión de células sanguíneas rojas, células
30 sanguíneas blancas y partículas de poliestireno. Aunque las

407615



1 células sanguíneas rojas y blancas tienen nominalmente ta-
maños diferentes, sus niveles de tamaño tienden a superpo-
nerse, o por lo menos bajo ciertas condiciones de salud po-
drían superponerse, de tal manera que una clasificación ba-
5 sada exclusivamente en el tamaño de partícula no proporcio-
naría un análisis exacto de esos diferentes tipos de partí-
culas. Además, las opacidades de estos dos tipos de células
sanguíneas se superponen también; por consiguiente, no po-
drían emplearse las enseñanzas de la patente n° 3.502.974
10 con su máxima eficiencia sin el uso de la presente inven-
ción. El poliestireno se incluye en este ejemplo, porque
posee una opacidad bien definida, notablemente superior a
la de las células sanguíneas rojas y blancas y por lo tan-
to puede emplearse a efectos de control. Expuesto algo aná-
15 logamente, las células sanguíneas rojas y blancas poseen
inherentemente impedancias internas similares y el polies-
tireno posee una impedancia interna notablemente diferente.
A los efectos de este ejemplo, se supondrá que los tres
tipos de partículas son exactamente del mismo tamaño, de
20 tal manera que éste no contribuya a las condiciones de cla-
sificación, detección o captación.

Una forma de cambiar la opacidad de una célula
sanguínea y tipos similares de partículas, consiste en al-
terar la naturaleza del contenido de la célula o cambiar
25 el propio contenido. Tal cambio o tratamiento altera la
opacidad de la partícula al alterar su impedancia interna
y deberá ser no destructivo, puesto que se frustraría el
análisis de las partículas si éstas hubiesen de perder su
propia identidad. Un posible modo de cambiar la naturaleza
30 del contenido interno de la partícula, para alterar su im-



1 pedancia y opacidad, sería por irradiación. La forma de
irradiación dependería de la naturaleza de la partícula.
Otra forma de cambiar la opacidad de una partícula sería
mediante aplicación a la misma de una sustancia cambiadora
5 de la impedancia. Tal sustancia podría ser absorbida en la
partícula o inyectarse de hecho en la misma. Aunque tal
tratamiento puede implicar una acción y/o reacción química,
también puede implicar otras formas de acción y/o reacción
que operen directamente sobre la impedancia interna de ti-
10 pos de partículas seleccionados.

Una forma de conceptualizar muchos tipos de particu-
las es considerar una membrana que envuelve a una masa de
contenido. La partícula es en cierto modo como un globo
lleno de fluido, de tal manera que su membrana puede ser
15 punzada para extraer lentamente el contenido o bien puede
ser rota para destruir su forma rápidamente y perder su
contenido. Si al punzarse se produce un cambio del conteni-
do interno de la partícula con el material circundante, es
decir, el fluido en el que está suspendida la partícula,
20 entonces la membrana puede retener su forma y tamaño ini-
ciales mientras se está cambiando su contenido y aunque só-
lo se altere la opacidad de la partícula.

Aunque el punzado o desintegración de la membrana
podría efectuarse mediante algún proceso mecánico o eléc-
25 trico, el proceso químico ha ofrecido hasta ahora la solu-
ción más aceptable, en forma de agentes desintegradores.
Estos agentes son bien conocidos en la hematología por ac-
tuar sobre las células sanguíneas rojas para romperlas de
hecho y liberar su contenido, como en determinaciones hemo-
30 globínicas.

407615

- 12 -



1 De acuerdo con la presente invención, se ha descubierta que el uso de una adecuada cantidad mínima de un agente desintegrador permite un eficaz punzado sin ruptura de la membrana celular para permitir el cambio de fluido. 5 Naturalmente, la cantidad de agente desintegrador depende de la concentración de partículas, el tipo de éstas y otras diversas condiciones ambientales. Si las partículas se rompen, entonces es que se ha empleado demasiado agente desintegrador.

10 Antes de proseguir, es de destacar expresamente que el término "agente desintegrador" no se limita aquí a sus formas o usos químicos hematológicos y que el ejemplo específico de células sanguíneas no ha de considerarse limitativo.

15 Específicos agentes desintegradores químicos que han resultado ser satisfactorios entran en el grupo de detergentes, alcaloides vegetales y enzimas. Ejemplos de cada tipo son, respectivamente, el bromuro de hexacetiltrimetilamonio, cloruro hexatrimetilamónico y otras sales amónicas cuaternarias; saponina; y estreptolisina-O.

20 Si se conociese una suspensión que contuviese sólo dos tipos de partículas dotadas de opacidades iguales o superpuestas, entonces sería suficiente un solo tratamiento para cambiar la opacidad de un tipo de partículas respecto al otro, en la clasificación de tales partículas. Por ejemplo, y con referencia a la figura 3, si bajo la curva de opacidad Z, el área definida por las líneas discontinuas 25 verticales abarcadas por la llave A + B hubiese de representar el nivel de opacidad superpuesta de las células sanguíneas rojas y blancas, entonces la adición de una adecuada 30

407615



1 cantidad de saponina causaría un cambio en la opacidad de
las células rojas para hacerles adquirir un nivel de opa-
cidad clasificablemente distintivo bajo la llave A' y dejar
las células blancas claramente clasificables en su nivel
5 de opacidad B'. Aun cuando el nivel de opacidad de las cé-
lulas blancas hubiese de ser cambiado también por el agen-
te desintegrador, en cuanto al nivel B", el análisis de los
dos tipos de partículas podría efectuarse sobre la base de
sus diferentes opacidades resultantes. El nivel de opaci-
10 dad C es representativo de las partículas de poliestireno.

Ahora bien, si se encontrasen inicialmente más
de dos tipos de partículas al mismo nivel de opacidad y no
fuesen diferentemente afectados por el mismo agente de tra-
tamiento, podría ser entonces necesario emplear más de un
15 agente de tratamiento, y de hecho una combinación de agen-
tes, que incluyesen algo más que agentes desintegradores.
Por ejemplo, una vez cambiadas las células rojas al nivel
A' y con las células blancas situadas al nivel B', sería
deseable separar los linfocitos de las restantes formas de
20 células blancas. En consecuencia, mediante el tratamiento
adicional efectuado por medio de un segundo agente cambia-
dor de la opacidad, los linfocitos podrían ser cambiados a
un nuevo nivel, tal como B". Una vez separados los linfoci-
tos y células rojas, mediante cambios de opacidad, de las
25 restantes partículas sanguíneas, es posible que las formas
de los granulocitos y monocitos resulten distinguibles a
efectos de clasificación y análisis.

Seguidamente se ofrecen ejemplos prácticos del
grupo anteriormente mencionado de agentes desintegradores
30 químicos. En cada ejemplo, las temperaturas de los líqui-

407615

- 14 -



1 dos estaban a valores ambientes, próximos a 26°C.

I

5 Como detergente, una forma de sal amónica cuaternaria es el bromuro hexadeciltrimetilamónico (Cetrimide), que se empleó a varios niveles de pH en una solución de salina fisiológica neutralizada con ácido cítrico - fosfato disódico. En la salina neutralizada se efectuó una dilución 1:50.000 de sangre completa. Luego se añadió el citado detergente y se puso en marcha un cronometrador. La concentración final del detergente desintegrador era de 5 mg por 10 litro. El punto final fue señalado por la desaparición del esquema de las células sanguíneas rojas de la pantalla de un tubo de rayos catódicos, es decir, por transparencia eléctrica.

15	<u>pH salina neutralizada</u>	<u>Tiempo para transparencia células sanguíneas rojas</u>
	2,25	0,25 minutos
	2,99	4,0 "
	3,58	7,0 "
20	3,98	12,5 "
	4,52	30,0 "

II

25 Como alcaloide vegetal, se añadieron 250 µl de una solución al 1% de saponina a 100 µl de sangre completa suspendida en salina neutralizada con fosfato, que tenía un pH de 7,2. Se produjo la desintegración de las células rojas y se efectuó un trazado de proporciones de leucocitos, que mostró dos máximos distintos.

III

30 Como enzima, se añadió 0,5 ml de estreptolisina-0



407615¹³

1 a una solución que contenía 0,2 ml de una suspensión 1:500
de células sanguíneas rojas y 40 ml de salina fisiológica
neutralizada a varios niveles con neutralizadores de ácido
citríco - fosfato sódico. Cuando las células sanguíneas
5 rojas se hicieron transparentes, dejaron de ofrecer un es-
quema de proporciones y se consideró completada la desinte-
gración.

	<u>pH neutralizador salina</u>	<u>Tiempo para desintegra- ción</u>
10	3,0	0,5 minutos
	3,45	0,5 - 0,6 "
	4,95	0,5 "
	6,4	4,5 - 5,0 "
	7,5	> 5 "

15 Una vez realizada la operación de tratamiento y
formado el campo detector electrónico, éste último de acuer-
do con las enseñanzas de la patente nº 3.052.974, entonces,
como se indica en la figura 2, se pasa la suspensión a tra-
vés del campo y se detecta a efectos de clasificación.

20 Otro aspecto de esta invención es la operación
de excluir de toda consideración, por los medios clasifi-
cadores, partículas situadas en cualquier nivel particular
de opacidad. Por ejemplo, y de nuevo con referencia a la
figura 3, supóngase que han de excluirse las partículas del
25 nivel A'. Como se comprenderá, podría excluirse cualquier
nivel; sin embargo, la exclusión del nivel A' es más fácil
de ilustrar y describir aquí.

30 Relacionado con la exclusión de partículas situa-
das a un nivel de opacidad, está el hecho de que existe una
curva de respuesta de opacidad, designada por Z en la figu-



407615

1 ra 3. La forma e inclinación precisas de esta curva de res-
puesta y los factores que generan su forma no son esencia-
les para la presente explicación. Importante es la aprecia-
ción de que, debido a las resistencias y reatancias eléc-
5 tricas implicadas en la captación y detección de la opaci-
dad, se desarrolla una curva de respuesta Z, de tal manera
que a diferentes niveles de opacidad las amplitudes de vol-
taje de la curva de respuesta son diferentes. Por consi-
guiente, si han de excluirse de su clasificación particu-
10 las de un nivel específico de opacidad, una supresión de
la relacionada amplitud de voltaje realizará esta tarea.

Como se muestra en la figura 3, el punto medio
del nivel A' se encuentra en el voltaje +V. Generando un
nivel de voltaje igual y opuesto -V y aplicándolo a la en-
15 trada del medio clasificador, la curva de respuesta Z será
alterada en toda su longitud para formar una curva de res-
puesta modificada Z'. Como fácilmente se ve, el nivel de
opacidad A' cruza la curva Z' a lo largo del eje de volta-
je cero o por lo menos muy cerca de él; por consiguiente,
20 queda de hecho excluido. Aunque las amplitudes de los otros
niveles de opacidad B", A + B, B' y C son atenuadas por el
valor de voltaje V, su clasificación no será adversamente
afectada.

Si hubiese de excluirse un nivel de opacidad que
25 no sea el situado en un extremo de la curva Z, los situa-
dos debajo de aquél resultarían invertidos en su polaridad
debido al proceso de sustracción de voltaje; por lo demás,
sería válida la anterior explicación.

Si hubiese de excluirse más de un nivel, este
30 proceso podría repetirse secuencialmente por cada indesea-

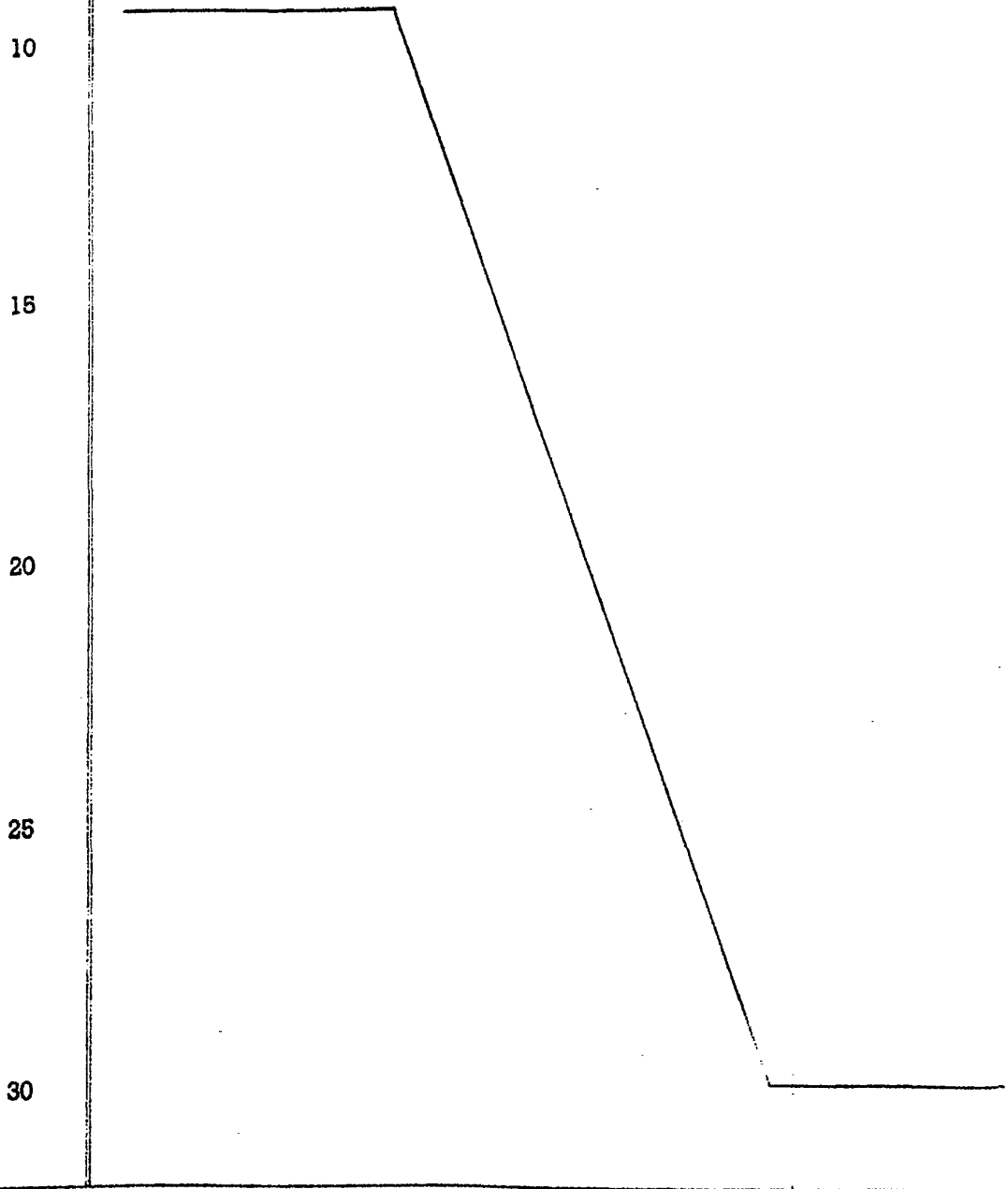
407615



1 do nivel de opacidad de las partículas.

Se supone que la anterior presentación permitirá a los expertos en la materia relacionada con el análisis de partículas electrónicas, y particularmente a los conocedores del principio Coulter, apreciar el pleno ámbito de esta invención y practicar sus enseñanzas.

En resumen la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:





1972

1

REIVINDICACIONES

5

1. Un método para la clasificación electrónica de diferentes tipos de partículas, cuya clasificación tiene por base la detección de la opacidad electrónica de las partículas, la operación de someter todas las partículas a un medio de tratamiento que actúa selectivamente sobre dichos tipos diferentes de partículas cambiando notablemente la opacidad electrónica de uno por lo menos de los tipos de partículas.

10

2. Método según la reivindicación 1, en el que dicha sujeción al medio de tratamiento altera la impedancia del citado tipo de partículas por lo menos.

15

3. Método según las reivindicaciones 1 ó 2, en el que dicha sujeción al medio de tratamiento altera la impedancia interna del citado tipo de partículas en una medida mayor a como tal sujeción altera la impedancia de otro de tales tipos de partículas.

20

4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho medio de tratamiento causa una reacción química con los citados tipos de partículas, de manera que sus impedancias internas son selectivamente alteradas.

25

5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho medio de tratamiento causa una reacción química por lo menos con el citado tipo de partículas para cambiar su opacidad.

30

6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho medio de tratamiento comprende un agente desintegrador.

7. Método según la reivindicación 6, en el que

407615



1 dicho agente desintegrador es seleccionado entre el grupo
de detergentes, alcaloides vegetales y enzimas que son ca-
paces de funcionar como agentes desintegradores.

5 8. Método según la reivindicación 7, en el que
el detergente es una sal amónica cuaternaria capaz de fun-
cionar como agente desintegrador.

10 9. Método según la reivindicación 8, en el que
dicha sal amónica cuaternaria es seleccionada entre el gru-
po constituido por bromuro hexacitiltrimetilamónico, cloru-
ro hexatrimetilamónico y bromuro hexadeciltrimetilamónico.

10 10. Método según la reivindicación 7, en el que
el alcaloide vegetal es una saponina.

15 11. Método según la reivindicación 7, en el que
la enzima es estreptolisina-0.

15 12. Método según cualquiera de las reivindica-
ciones 1 a 11, en el que por lo menos dicho tipo de partí-
culas se encuentra en la sangre completa.

20 13. Método según cualquiera de las reivindica-
ciones 1 a 12, en el que por lo menos dicho tipo de partí-
culas posee un contenido interno que es separado, por lo
menos parcialmente, por dicho medio de tratamiento.

25 14. Método según la reivindicación 13, que com-
prende además la operación de crear una suspensión de las
partículas en un fluido dotado de una impedancia diferente
a la del contenido interno de las partículas, de manera
que, cuando se pierde dicho contenido interno, es sustitui-
do por el citado fluido para efectuar un cambio detectable
en la impedancia del contenido interno de las partículas.

30 15. Método según cualquiera de las reivindica-
ciones 1 a 14, que comprende además las operaciones de de-



1972

1 tectar electrónicamente por lo menos la opacidad de cada
partícula en un campo electrónico que incluye una energiza-
ción de alta frecuencia y captar el resultado eléctrico de
dicha detección de manera que permita la clasificación de
5 las referidas partículas.

16. Método según la reivindicación 15, en el
que dicha captación o detección incluye la exclusión elec-
trónica de partículas cuya opacidad entra por lo menos den-
tro de un nivel definido.

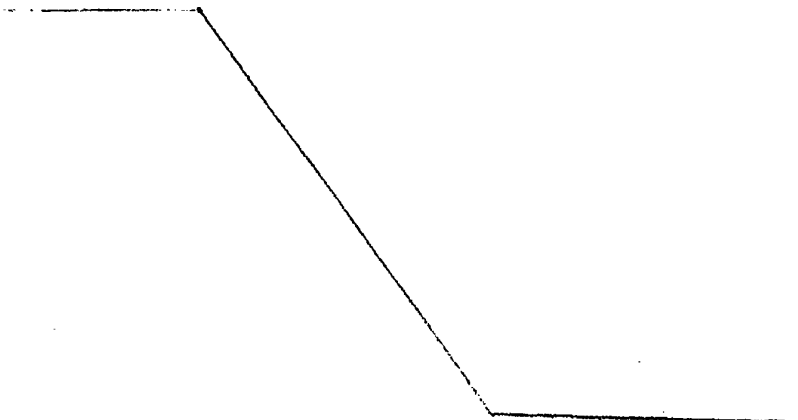
10 17. Método según la reivindicación 16, en el
que la citada exclusión tiene lugar en un nivel de opaci-
dad de partículas cuya opacidad fue notablemente cambiada
por dicho medio de tratamiento.

15 18. Método según la reivindicación 16, en el
que la citada exclusión se efectúa sustrayendo del resul-
tado eléctrico de dicha detección de todas las partículas
un valor eléctrico igual al de la respuesta de opacidad
atribuible al nivel de opacidad definido.

20 19. Se reivindica por último como objeto sobre
el que ha de recaer la Patente de Invención que se solici-
ta: "UN METODO PARA LA CLASIFICACION ELECTRONICA DE DIFE-
RENTES TIPOS DE PARTICULAS".

25

30





1 Todo conforme queda descrito y reivindicado en
la presente Memoria descriptiva, que consta de veintiuna
páginas mecanografiadas y dibujos que se acompañan.

Madrid, 13 de octubre de 1972.

5 BERNARDO UNGRIA

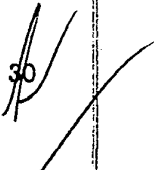
p.p.


10

15

20

25


30

