

REF: 137.114.



90

412967

Nº 412.967

H03K

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

Solicitante: COULTER ELECTRONICS LIMITED

Domicilio: HIGH STREET SOUTH/DUNSTABLE/REDFORDSHIRE/
INGLATERRA LU6 3HT.

Enunciado: METODO Y SU CORRESPONDIENTE APARATO PARA LA
CORRECCION AUTOMATICA DE LAS VARIACIONES DE
RECUESTO DE PARTICULAS.

Prioridad: de las solicitudes de patente estadounidenses
No. 238.079 del 27 Marzo 1.972 y la 292.421
del 26 Septiembre 1.972.

412967



El invento está relacionado con métodos y aparatos para contar partículas que realizan una corrección estadística sobre un tren detectado de impulsos de recuento producidos por partículas, de tal manera que una reducción o un incremento de la cuenta debidos a una coincidencia aleatoria no produzca un error en la cuenta final.

Los métodos y aparatos de recuento de partículas en cuestión utilizan zonas de detección de partículas en las cuales más de una partícula puede estar presente en cualquier tiempo y puede por consiguiente generar de manera aleatoria un estado de coincidencia.

Se conoce ahora muy bien en la técnica del recuento y del análisis de las partículas electrónicas un aparato vendido principalmente bajo la Marca Comercial "Contador Coulter". Este aparato y unas partes del mismo están descritas en varias Patentes de los Estados Unidos por ejemplo las Patentes número 2.656.508; 2.985.830; y 3.259.842. Una parte notablemente importante de dicho tipo de aparato Coulter es la pequeña abertura de exploración, o ámbito de exploración, o zona de detección con respecto a la cual o a través de la cual pasan y son detectadas las partículas separadas a una frecuencia a veces superior a 1000/segundo. Debido a los parámetros físicos del orificio de exploración y de la concentración de las partículas, se produce frecuentemente la coincidencia de dos o mas partículas en el ámbito de exploración. Por consiguiente, se detecta efectivamente y se cuenta solamente una partícula y no dos o más. Esta reducción de la cuenta se identifica bajo el nombre de coincidencia primaria.

Por otra parte, dos o más pequeñas partículas,

412967



5 las cuales no podrían ser contadas individualmente debido a su pequeño tamaño, pueden coincidir para producir un impulso que se cuenta como una sola partícula más importante (que no existe). Dicho incremento de la cuenta se identifica bajo el nombre de coincidencia secundaria.

Aunque estas condiciones de coincidencia durante el recuento son aleatorias en el tiempo, siguen una forma que puede ser determinada estadísticamente, y pueden obtenerse de ella curvas, tablas y fórmulas.

10 Si K , volumen crítico de la zona de detección, puede ser conocido por un grupo dado de condiciones de instrumentación, y si se sabe que la coincidencia secundaria es insignificante, el verdadero número N de partículas contenidas en la suspensión puede ser determinado con precisión por medio de la ecuación

$$N = \frac{1}{K} \ln(1 - Kn), \text{ en la cual } \ln \text{ es el logaritmo natural.}$$

15 Creando por lo menos dos recuentos brutos n y n_i relacionados entre sí, bajo la forma de por lo menos dos recuentos obtenidos físicamente, o de un recuento físico y un recuento artificial derivado del recuento físico, puede desarrollarse una función matemática por medio de la cual la constante de exploración k de un analizador de partículas tipo Coulter puede recibir un coeficiente y puede obtenerse una ecuación resultante. La ecuación resultante es utilizable para operar sobre los recuentos brutos de entrada n y n_i para generar la cuenta final N_i corregida que se desea obtener finalmente.

20 El invento incluye un método y un aparato por medio del cual pueden obtenerse los recuentos brutos:

30 a) haciendo pasar el volumen de muestra a tra-

412967



vés de dos o varios orificios de exploración diferentes que tienen relaciones conocidas entre sus volúmenes críticos para obtener n , n_i , n_j , etc.;

5 b) haciendo pasar dos o más diluciones diferentes con relación de dilución conocida a través de un solo orificio de exploración para obtener n , n_i , n_j , etc.;

c) por una variación de (b) formar una resultante de n y n_i que define el volumen crítico K en lugar del recuento corregido N_i ;

10 d) haciendo pasar el volumen de muestreo a través de diferentes orificios de exploración que tienen el mismo volumen crítico y utilizando una salida como n y la suma de salidas como n_i ; y

15 e) haciendo pasar una muestra a través de un orificio de exploración para generar n y, mediante la utilización de un retardo y de la adición de n así mismo, formar n_i .

De acuerdo con el invento, se proporciona un método para la corrección automática de las variaciones de recuento de partículas coincidentes en un analizador de partículas del tipo de zona detectora que incluye las etapas que consisten en: generar una pluralidad de trenes de impulsos de partículas haciendo pasar por lo menos una porción de una muestra de partículas a través de por lo menos un dispositivo de zona de detección de un dispositivo del tipo provisto de zonas de detección, caracterizado porque dicha etapa de generación de los trenes de impulsos incluye la etapa que consiste en producirlos de tal manera que definan una función matemática de interrelación, en la cual las solas incógnitas son los números de impulsos en cada

20

25

30

412967



5 tren; acumular los recuentos de impulsos de cada tren, realizar operaciones matemáticas sobre los recuentos acumulados en función del recuento corregido y de su relación funcional, y derivar de dicha operación una cuenta de partículas resultante corregida para tener en cuenta las variaciones de recuento debidas a coincidencias.

10 El invento proporciona además un aparato para la corrección automática de las variaciones de recuento de partículas coincidentes en un analizador de partículas del tipo de zonas de detección que incluye: un dispositivo generador para generar una pluralidad de trenes de impulsos de partículas, incluyendo dicho generador por lo menos un dispositivo de zona de detección y un equipo para suministrar por lo menos una porción de una muestra de partículas para que
15 pase a través del dispositivo de zona de detección; un acumulador para acumular los recuentos de impulsos procedente de cada uno de los trenes de impulsos y para utilizar dichos recuentos como señales de salida; incluyendo además dicho generador una estructura de control que interconecta dicho
20 dispositivo de zona de detección, dicho equipo de suministro y dicho acumulador para controlar la circulación de la muestra y la aplicación de los impulsos debidos a partículas a dicho acumulador, caracterizado por un dispositivo generador, de salida de recuento bruto, que está definido por la combinación de dicho generador y de dicho acumulador, estando
25 dicho generador construido y dispuesto de tal manera que las señales de recuento de salida tengan una función matemática de interrelación que está relacionada con su recuento corregido en función de la coincidencia en términos que excluyen cualquier otra incognita; y una computadora conectada para reci-
30



bir las señales de salida y para realizar en ellas operaciones en función de su relación funcional para obtener una cuenta de partículas resultantes corregida que tiene en cuenta las coincidencias.

5 Los modos de realización preferidos del invento se describirán ahora, a título de ejemplo, haciendo referencia a los dibujos que acompañan esta Memoria, y en los cuales:

10 La figura 1 es una vista esquemática que ilustra el perfil de una forma de disco de exploración a través del orificio del cual pasan unas partículas a lo largo de tres trayectos diferentes, representándose los impulsos eléctricos resultantes en posiciones adyacentes al perfil del orificio;

15 La figura 2 es un diagrama en bloques de un aparato de corrección de coincidencia de acuerdo con dos modos de realización diferentes del invento;

 La figura 3 es un diagrama en bloques de otro modo de realización del invento;

20 La figura 4 es un diagrama en bloques de otro modo de realización suplementario del aparato de corrección de coincidencia;

 La figura 5 es una pluralidad de gráficos de impulsos representativos de partículas, para ilustrar el invento de acuerdo con el aparato de la figura 4;

25 La figura 6 es un diagrama en bloques de un modo de realización óptico del invento;

 La figura 7 es una vista esquemática de una forma de dispositivos con volumen de detección variable útil para el modo de realización de la figura 6; y

30



La figura 8 es una vista esquemática de una variante del dispositivo de la figura 7.

5 En la figura 1, se ilustra el perfil en sección de un disco típico 10 de un aparato "Contador Coulter" para recuento y cálculo de dimensiones de partículas que tiene en él un orificio 12. La estructura representada es un simple agujero cilíndrico con bordes vivos 14 y 16. Cuando se establece la corriente de orificio por medio de unos electrodos (no representados) en los lados opuestos el disco, la
10 electricidad circula a través del orificio de un lado al otro, por ejemplo del lado izquierdo al derecho. El disco 10 dotado del orificio 12 está sumergido en el fluido o electrolito de la muestra, pero no se utilizan símbolos para ilustrar este fluido para simplificar la representación. Cuando
15 la corriente eléctrica atraviesa el líquido, la densidad eléctrica en el interior y cerca del orificio es diferente de la que es en otras partes de las zonas del fluido a través de las cuales pasa el fluido. En el orificio propiamente dicho, la densidad de la corriente eléctrica variará de un
20 lugar a otro. La densidad de la corriente en las esquinas 14 y 16 será mucho más elevada que en cualquier otro punto.

Algunas de las líneas de isopotencial se ilustran en la figura 1. Estas líneas se representan perpendiculares en cada punto donde tocan la superficie externa del
25 disco 10, siendo transversales respecto al agujero 12 en 18, encorvándose ligeramente hacia el exterior en las extremidades 20 y presentando una forma de arco pronunciada en la superficie externa de la curva 22. En conjunto, el volumen del fluido que está en el orificio así como cerca de los límites
30 físicos del mismo define un volumen sobre el cual la concen-



tración del grado de densidad de la corriente eléctrica actúa para definir una zona de exploración o volumen crítico K a través del cual las partículas en movimiento producen un cambio de resistencia y generen impulsos que pueden ser detectados. Aunque la densidad de corriente en el orificio 12 es generalmente superior a la que es en el exterior del orificio, la densidad de la corriente es máxima en las esquinas 14 y 16, donde la corriente eléctrica de la vuelta, por decirlo así, con el fin de penetrar en el orificio 12 y por tanto es superior a la que es el centro del orificio.

Examinemos ahora tres trayectos de partículas A, B y C que atraviesan el orificio de la izquierda a la derecha a lo largo de las líneas discontinuas que se representan en la figura 1. La primera partícula A atraviesa aproximadamente el centro del orificio con la corriente física de líquido, y, al pasar de la izquierda a la derecha bajo la influencia del incremento de densidad de la corriente, su efecto máximo sobre la resistencia de la zona de exploración del orificio se produce cerca del centro del orificio donde las líneas isopotenciales 18 están más próximas y son paralelas las unas a las otras. Examinando el gráfico del impulso eléctrico resultante, del cual se supondrá que ha sido obtenido por algún dispositivo detector tal y como se describirá con referencia a las figuras 2-6, se representa el impulso en A, su amplitud máxima AMP.A está en su centro, y es proporcional al tamaño de la partícula A. La duración del impulso es igual al tiempo durante el cual la partícula está en el ámbito del orificio, es decir bajo su influencia eléctrica. Este tiempo es muy superior a L, longitud del orificio 12, ya que, según se ha indicado, existe una curva convexa de densidad de corriente eléctrica relativamente elevada en el exterior de



los límites geométricos del orificio.

5 Si todas las partículas siguiesen trayectos similares al trayecto A, es decir si pasasen muy cerca del centro del orificio l2, entonces todos los impulsos resultantes tendrían el aspecto del impulso A, difiriendo solamente por su amplitud, la cual estaría relacionada con el tamaño de las partículas. Se observará que las dimensiones han sido exageradas en la vista con el objeto de proporcionar un mejor entendimiento de la teoría en cuestión. La
10 duración total del impulso es corrientemente del orden de 20 a 40 microsegundos.

Todas las partículas no atraviesan el orificio l2 a lo largo de trayectos similares al trayecto A. Algunas siguen trayectos considerablemente alejados del eje de la corriente física del líquido y penetran en el orificio justo antes de que la corriente penetre en la entrada del orificio l2, como por ejemplo el trayecto C, o incluso más cerca de la entrada, por ejemplo el trayecto B. Además, más de una
15 partícula puede situarse y desplazarse a través del ámbito de exploración al mismo tiempo o por lo menos en tiempos que se superponen. Para las necesidades de la descripción de las formas de onda que se ilustran en la figura 1, se supondrá que las partículas A y B que siguen los trayectos A y B son de tamaño idéntico mientras que la partícula C es de tamaño
20 doble y debe normalmente tener una amplitud AMP.C doble de AMP.A, si esta partícula y la partícula A pasan por el trayecto A en tiempos diferentes. Sin embargo, cuando la partícula B se desplaza a través del ámbito del orificio l2, pasa cerca de la esquina l4, donde la densidad de la corriente es
25 máxima, y el efecto progresivo es el mismo que si la resista-



1975

cia del orificio 12 hubiera sido aumentada en este punto. Por consiguiente, se producirá una cresta 24 de la amplitud AMP.B en el comienzo del impulso B.

5 Cuando la partícula B penetra en el orificio 12, se desplaza bajo la influencia de la región 18 de la corriente eléctrica, donde la densidad es muy uniforme de modo que la amplitud correspondiente del impulso B será la de AMP.A, según se representa en 26. Cuando la partícula B que sigue el trayecto B sale del orificio 12, pasa cerca de la esquina
10 16 a través de una región de elevada densidad de corriente y por tanto se produce otra cresta 28 que será más importante que la parte del impulso indicada en 26.

15 La partícula C, que tiene un tamaño doble del de la partícula A o B y por tanto es igual a la suma de sus volúmenes, se representa desplazándose a lo largo del trayecto C, y produce el impulso C que tiene una amplitud de cresta 30 la cual, aunque no doble de la amplitud AMP.B de la cresta 24 es más del doble de AMP.A. La parte superior del impulso C no es una curva suave como la del impulso A ni
20 tampoco un impulso netamente doble como el impulso B ni tampoco ninguno de los impulsos con parte superior plana; por tanto, no existe ningún perfil particular que pueda ser utilizado fácilmente para distinguir un impulso de partículas generado por una sola partícula a partir de una forma de
25 onda resultante producida por la coincidencia de dos o más partículas en el ámbito del orificio. Esta conclusión sigue exacta incluso si el perfil del impulso A es el más conveniente, ya que las formas de onda derivadas de impulsos coincidentes pueden tener el perfil del impulso A así como del
30 impulso B o C, tal y como se explicará detalladamente en lo

412967



que sigue con relación a la forma de onda $A + B$ y según se desarrolla con referencia a las formas de onda de la figura 5.

5 Si las partículas A y B tuvieran que atravesar el ámbito del orificio al mismo tiempo a lo largo de sus trayectos respectivos A y B, producirían una forma de onda o impulso $A + B$, según se representa en la figura 1. Este impulso sería la suma, punto por punto, de los impulsos A y B, como representado en superposición, de manera bien conocida. La similitud notable entre el impulso C y el impulso $A + B$, aunque única en cierto grado, no deja ninguna duda respecto al hecho de que dos partículas puedan crear y de hecho crean la imagen electrónica de impulsos de una sola partícula aunque de tamaño diferente. Igualmente, tres o más partículas pueden coincidir dentro del ámbito del orificio y simular una sola partícula. Por tanto, en los estudios de recuento y distribución dimensional realizados por medio de un contador Coulter, se producirá una reducción o un incremento en una cuenta de partículas cada vez que un impulso $A + B$ es producido por la coincidencia en el tiempo de varias partículas en el orificio. Si los impulsos de partículas A y B tuvieran ambos valores superiores al valor de umbral mínimo necesario para el recuento de los impulsos, el impulso $A + B$ produciría un estado de coincidencia primaria, es decir una reducción de la cuenta. Por el contrario, si los impulsos de partículas A y B tienen ambos un valor inferior al valor de umbral mínimo y si su impulso de coincidencia $A + B$ tiene una amplitud superior a este valor de umbral, se obtendrá un incremento de la cuenta del tipo de coincidencia secundaria.

30 El paso de las partículas A y B no debe necesar-



riamente ser simultáneo para crear una condición de coincidencia en el recuento. Si dos partículas están ligeramente separadas en el tiempo, formarán un impulso con doble cresta similar al impulso B. Desgraciadamente, a no ser que el hueco 26 entre las crestas 24 y 28 de un impulso perfilado B sea suficientemente bajo para cruzar un valor de umbral bajo, o que sus pendientes puedan ser distinguidas de otra manera, el análisis de los impulsos no permitirá distinguir entre un impulso B obtenido a partir de una o a partir de varias partículas, y producirá solamente el recuento de una partícula; se obtendrá así un estado de coincidencia en el recuento.

Hasta la fecha, el operador de un "Contador Coulter" obtenía el recuento bruto mediante el análisis de una suspensión de partículas y a continuación se refería a un gráfico de corrección de coincidencia que indicaba el recuento corregido de acuerdo con unas condiciones determinadas.

Aunque la utilización de gráficos pueda dar a menudo un resultado exacto, requiere tiempo e impide el registro completamente automático así como el tratamiento de los recuentos corregidos.

Igualmente, naturalmente, el recuento que se acumula durante el análisis no se corrige. Es preciso utilizar diferentes gráficos con orificios de tamaños diferentes así como diferentes procedimientos de recuento, tales como la ubicación del nivel de umbral de recuento con relación a la distribución dimensional de las partículas.

K es el volumen crítico (en unidades de volumen unitario del fluido que pasa a través del orificio durante el recuento de las partículas, por ejemplo 1 ml) defini-

412967



do por la abertura de exploración de un analizador de partículas tipo Coulter. Desafortunadamente, el volumen crítico no es una cantidad fija para cualquier orificio y seguramente no es el mismo cuando las condiciones de entrada varían.

5 Una de las variables que entra en la determinación del volumen crítico es el campo eléctrico en la proximidad inmediata en el exterior del orificio de exploración, que debe incluirse en lo que se llama "ámbito de exploración", del detector de partículas.

10 Una fórmula relativamente simple para la corrección de coincidencia es:

$$(I) N' = kn^2; \text{ en la cual}$$

N' = número total de coincidencias

15 k = constante relacionada con los parámetros físicos de los elementos de exploración del aparato analizador, y

n = número de partículas detectadas.

Por tanto, el recuento verdadero o corregido es $N = N' + n$.

20 A partir de la fórmula básica (I) se desarrollan aquí las fórmulas siguientes (1) a (33).

Otra fórmula básica relacionada con la corrección de coincidencia del recuento es:

$$(II) n = N - \frac{kN^2}{2}. \text{ A partir de la fórmula (II), se desarrollarán aquí las fórmulas (A) a (U).}$$

25 Reducido a su forma más simple, el error de recuento debido a la coincidencia puede ser corregido añadiendo una fracción del recuento no corregido o bruto n . Esta fracción puede ser definida como "factor de corrección" F_C , para el cual:

30 (1) $F_C = kn$, siendo k una "constante de exploración" de



valor extremadamente pequeño. Por tanto, el cálculo del recuento verdadero N es:

$$(2) N = (1 + F_C)n.$$

5 La experimentación demuestra que la constante de exploración k es muy próxima a la relación entre el K crítico y el volumen de muestra S; por consiguiente,

(3) $k = \frac{K}{S}$. Suponiendo que k puede ser obtenido, entonces, a partir de las ecuaciones (1) y (2),

$$(4) N = (1 + kn)n \text{ ó}$$

10 (5) $N = n + kn^2$

Desafortunadamente, debido al tamaño extremadamente pequeño de la mayoría de los orificios de exploración, k no es fácil de aislar con seguridad y reproductibilidad para varios parámetros de entrada.

15 Una ecuación más útil como base de corrección de coincidencia puede ser obtenida por la distribución de Poisson de la generación de los impulsos. Esta ecuación se escribe como una serie con algunos términos desconocidos, pero de estructura matemática conocida. Si no existen pérdidas de recuento significativas en el equipo electrónico, del instrumento, y si n es el recuento registrado que resulta del paso de N partículas a través de la zona eficaz o de detección de volumen K, entonces

20 (A) $n = N - \frac{K}{2!} (N^2 - x^2) + \frac{K^2}{3!} (N^3 - y^3) - \frac{K^3}{4!} (N^4 - z^4) + \dots$

25 x, y, y z son combinaciones lineales desconocidas de números de partículas en diferentes gamas de tamaño, que dan lugar a recuentos erróneos por coincidencia secundaria.

30 La serie (A) converge rápidamente cuando el producto KN es substancialmente inferior a la unidad, lo que puede ser obtenido muy frecuentemente en los instrumentos de recuento de partículas. Es posible conseguir entonces una

412967



1975

5 muy buena corrección del recuento teniendo en cuenta solamente el primer término de corrección $\frac{K}{2} (N^2 - x^2)$ y descartando todos los términos siguientes. Si no se puede descartar el segundo término $\frac{K^2}{6} (N^3 - Y^3)$ por lo que se refiere a la precisión deseada, éste debe también tenerse en cuenta y se descartarán los términos siguientes. En principio, puede tenerse en cuenta cualquier número deseado de términos mediante la adquisición de la información necesaria haciendo variar los parámetros de procedimiento y/o instrumentación.

10 Cuando la coincidencia secundaria es insignificante, lo que ocurre muchas veces en la práctica, podemos escribir, $x=y=z=0$. Por tanto, la ecuación (A) se reduce a:
(B) $n = \frac{1}{K} (1 - e^{-KN})$. Si K no puede ser determinado, la resolución de (B) permite obtener:

15 (C) $N = \frac{1}{K} \ln (1 - Kn)$, siendo ln el logaritmo natural.

20 Como se ha indicado más arriba, con referencia a las ecuaciones (1) a (4), (B) y (C), si el volumen crítico K o la constante de exploración, k, pudieran ser conocidos, entonces el problema de la reducción o de la ganancia debido a las coincidencias se resolvería más fácilmente y con más precisión que antes. Tal es la meta del método y del aparato de acuerdo con las figuras 2-6, que eliminan K y k como incógnita así como el primer término de corrección de la ecuación (A).

25 Haciendo referencia a la figura 2, se observará un dispositivo en el cual una fuente común de muestra de partículas 32 penetra en dos dispositivos de orificio 34, 36 los cuales respectivamente, aplican sus impulsos de salida a los amplificadores 38, 40 a los circuitos de umbral 42, 44
30 y a los acumuladores 46, 48. Se describen en las Patentes de



412967

los Estados Unidos nº 3.444.463; 3.444.464 y 3.549.994
 unos detalles de los conjuntos de varios orificios. Se su-
 pondrá aquí que los bloques de "orificios", contienen no so-
 lamente el disco perforado 10 y el orificio 12, sino también
 5 los tubos de orificio, las probetas, las estructuras de des-
 plazamiento y de medición de muestra, los electrodos, etc.,
 todo ello bien conocido y descrito en las Patentes mencionadas
 aquí. Si el analizador de partículas es distinto del tipo
 Coulter, los bloques 34 y 36 contendrán sus dispositivos de
 10 zona de detección apropiados. Por tanto, el término "orificio"
 que se utiliza aquí no tiene carácter limitativo.

En el primer modo de realización del invento,
 tanto del método como del aparato, se supondrá que las zonas
 de detección u orificios formados en los bloques 34 y 36 de
 15 la figura 2 tienen volúmenes diferentes, siendo el volumen
 del "orificio" de 36 el doble del volumen crítico del "orifi-
 cio" de 34. Por substitución en la ecuación (4):

$$(6) \quad N = (1 + k_1 n)n \text{ y}$$

(7) $N = (1 + k_2 n_1)n_1$. En esta fórmula, el recuento no
 20 corregido o bruto N_R a partir de los orificios 34 y 36 son
 respectivamente n y n_1 , y sus constantes de exploración son
 k_1 y k_2 , respectivamente. Ya que se ha elegido la relación
 de sus volúmenes de orificio como siendo 1 : 2, por ejemplo,
 entonces $2 k_1 = k_2$. Por substitución en (6) y (7):

25 (8) $N = (1 + k_1 n)n \text{ y}$

(9) $N = (1 + 2k_1 n_1)n_1$; resolviendo estas ecuaciones simul-
 táneas en función de k_1 ,



412967

(10) $k = \frac{N-n}{n^2}$ y $k_1 = \frac{N - n_i}{2n_i^2}$; por tanto,

(11) $\frac{N - n}{n^2} = \frac{N - n_i}{2n_i^2}$. A continuación, extra-

5

yendo N, este recuento exacto puede ser expresado en función de los dos recuentos brutos n y n_i

(12) $N = \frac{2nn_i^2 - n_i n^2}{2n_i^2 - n^2} = nn_i \frac{2n_i - n}{2n_i^2 - n^2}$

10

El orificio 36 es 1/R veces el volumen crítico del orificio 34. Mediante sustitución en la ecuación (A) y utilizando un solo término de corrección:

(D) $n = N - \frac{K}{2} (N^2 - x^2)$ y

15

(E) $n_R = N - \frac{K}{2R} (N^2 - x^2)$, en esta fórmula, los recuentos no corregidos o brutos a partir de los orificios 34 y 36 son, respectivamente, n y n_R; y sus constantes de exploración son k y k/R, respectivamente. Los términos de corrección pueden ser calculados por: multiplicación de la ecuación (E) por R; substracción de la ecuación (D); y calculando N que se identifica bajo la forma N_R. De este modo se obtiene,

20

(F) $N_R = \frac{Rn_R - n}{R - 1}$

25

Las ecuaciones (12) y (F) no contienen ninguna constante de calibración ni dependen del conocimiento del volumen crítico propiamente dicho y por tanto satisfacen las necesidades y los principios básicos del invento. Además, esta función matemática puede establecerse en una unidad de cálculo, tal como la que se representa por un bloque computador 50 en la figura 2, que recibe los recuentos brutos [n y n_i de la ecuación (12); y n y n_R de la ecuación (F)]

30

412967



5 en las entradas 52 y 54 a partir de los acumuladores 46 y 48 para obtener a partir de su salida 56 una cuenta corregida en función de las coincidencias para que sea recibida por uno o varios de los dispositivos de lectura conocidos que se representan por un dispositivo de lectura corregida 58.

Se observará que la relación de volumen crítico determina el multiplicador numérico en las ecuaciones (12) y (F). Si, por ejemplo, la relación es 2:1, entonces $R = 2$ y la ecuación (F) se resuelve en:

10 (G) $N_2 = 2n_2 - n.$

15 Una variación del modo de realización que se acaba de describir incluye casi la misma disposición salvo el que los orificios formados en los bloques 34 y 36 han de tener los mismos volúmenes críticos y se añade una línea de entrada 60 a partir de la salida del amplificador 38 hasta la entrada del otro umbral 44. Según se ilustra, el acumulador 48 aplicará a su línea de salida 54 la suma de los impulsos de partículas obtenidos en ambos orificios 46 y 48, siendo dicha suma n_1 . Utilizando la ecuación (12), N puede ser
20 obtenido a partir de este dispositivo.

25 En los dos modos de realización descritos con referencia a la figura 2, se hace la suposición de que pueden obtenerse orificios con relaciones conocidas respecto a sus volúmenes críticos; sin embargo, existe también una premisa básica del problema que dice que el volumen real y por tanto el volumen crítico de un orificio no puede ser conocido. La suposición en cuestión no es invalidada por la premisa que antecede ya que no se necesita determinar los volúmenes reales para poder construir empíricamente dos orificios
30 que tienen una relación conocida entre sus volúmenes, (aunque

412967



1975

5 los mismos volúmenes sean desconocidos). Sin embargo, la utilización de dos orificios y de dos cadenas de elementos en paralelo representan un coste, un espacio, unos trabajos de mantenimiento y otros factores que disminuirán si se necesita solamente un orificio. Esto se obtiene en los siguientes modos de realización que se describen en las figuras 3 y 4.

10 Haciendo referencia a la figura 3, el orificio 34, el amplificador 38, el circuito de umbral 42, el acumulador 46 y el dispositivo de lectura 58 pueden ser los mismos que los elementos que llevan las mismas referencias en la figura 2. Una computadora 62 puede tener la misma estructura básica que la computadora 50; sin embargo, se programara para una función matemática diferente la cual, se describe a continuación, y recibirá solamente un recuento bruto en cualquier momento. El dispositivo de entrada de muestras proporciona dos diluciones diferentes de la misma muestra y de relación de dilución conocida. Las dos diluciones se representan solamente de manera esquemática en dos recipientes 32 y 64 y su método de formación puede ser cualquier método por medio del cual sea posible conocer sus diluciones relativas. Por ejemplo, la muestra 32 puede ser analizada e introducida de nuevo en el "recipiente" 32 y diluirse a continuación para transformarse en la muestra 64.

25 Para el siguiente ejemplo, se supondrá que las diluciones de las muestras presentan una relación de 1:2, habiendo sido diluida la muestra 64 que produce el recuento bruto n_1 por un factor de 2 a partir de la muestra 32 que produce el recuento bruto n . Un dispositivo de control de circulación de fluido adecuado 66 determinará la muestra

30

412967



que está recibiendo el orificio en cualquier momento y asegurará una circulación idéntica de las muestras.

Ya que se utiliza el mismo orificio para ambas diluciones, existe la misma constante de explotación k en las ecuaciones (13) á (18). Igualmente, ya que el recuento verdadero N con respecto a la muestra 64 será dividido por dos debido a la operación de dilución de la muestra 64, se utilizará el término $N/2$ en la ecuación (14). Para mayor conveniencia, tomaremos $J = n/n_i$.

5

(13) $N = (1 + kn)n$ y

10

(14) $N/2 = (1 + kn_i) n_i$; por tanto, por substitución

(15) $N = Jn_i + kJ^2n_i^2$ y

(16) $J^2N/2 = J^2n_i + J^2kn_i^2$. Por substracción de (16)

15

respecto a (15) y resolviendo en función de N :

(17) $N = 2Jn_i \frac{J - 1}{J^2 - 2}$, y por substitución de n/n_i por J ;

(18) $N = 2nn_i \frac{n - n_i}{n - 2n_i^2}$, que es la función matemá

20

tica incorporada en la computadora 62.

Se cree que el funcionamiento del aparato de la figura 3 y su método se desprende claramente de lo que antecede. El multiplicador de la ecuación (18) viene determinado por la relación de dilución, de modo que el valor numérico "2" (en los dos casos) sería "5" si la muestra 64 fuera una dilución de 1:5.

25

Para la descripción que sigue se supone que la muestra 64 está diluida por un factor r con respecto a la muestra 32, diluyendo v ml. de muestra 32 con Δv ml, de diluyente exento de partículas; por tanto:

30

412967



30 JUN 1975

$$(H) \quad r = 1 + \frac{\Delta v}{v}$$

5

El dispositivo de control de circulación 66 determinará qué muestra se está recibiendo por el orificio en cualquier momento dado y asegurará que, para cada ml. de muestra 32 que produce un recuento bruto n , pasarán b ml. de muestra diluida 64, produciendo así el recuento bruto n_r .

Utilizando la ecuación (A):

10

$$(I) \quad n = N - \frac{K}{2} (N^2 - x^2) \quad y$$

$$(J) \quad n_r = \frac{bN}{r} - \frac{bK}{2} \cdot \frac{N^2 - x^2}{r^2}$$

Resolviendo las ecuaciones simultáneas (I) y (J) en función de N , que se llama N_r , la cuenta corregida viene a ser:

15

$$(K) \quad N_r = \frac{\frac{r^2}{b} \cdot n_r - n}{r - 1}$$

ca incorporada en la computadora 62.

Si, por ejemplo, $r = 2$ (dilución de 1:1), y $b = 4$ (paso de 1 ml de muestra 32 y 4 ml de muestra diluida), entonces la ecuación (K) pasa a ser la siguiente:

20

(L) $N_r = n_r - n$. En este caso, el proceso de cálculo es muy simple. En primer lugar, se acumula el recuento bruto procedente de los 4 ml de muestra 64 y a continuación se resta el recuento bruto procedente de 1 ml. de muestra 32. Esta operación matemática puede realizarse fácilmente con un contador sumador-restador cuyos modos de suma y resta vienen determinados por la identidad de las muestras que se aplican por medio del dispositivo de control de circulación 66. Una línea de unión 67 simboliza dicho control de modo de funcionamiento entre el dispositivo de control de circulación 66 y la computadora 62, que puede estar constituida por un conta-

25

30

412967



1975

dor sumador-restador.

5 El modo de realización de la figura 3 ha demostrado ser superior al de la figura 2 con respecto a las pérdidas de recuento debidas al tiempo muerto del instrumento. Es bien conocido el hecho de que los instrumentos contadores exigen un tiempo de recuperación bien definido después de realizar un recuento y antes de que el siguiente recuento pueda ser registrado. Si dicho siguiente recuento de partículas cae dentro del tiempo de recuperación, se pierde; por tanto, se produce una pérdida de recuento debida al tiempo muerto. Los 10 experimentos han permitido observar que esta forma de pérdida de recuento debida al tiempo muerto no tiene efecto perjudicial, es decir que es eliminado en el cálculo por el método de dilución y el aparato de la figura 3, afectando sin embargo la precisión del modo de realización de la figura 2. El modo de 15 realización de la figura 3, tiene por sí mismo ciertos inconvenientes prácticos bajo la forma del tiempo y del equipo necesario para realizar dos diluciones precisas, para hacer pasar cantidades determinadas de las muestras y respecto al tiempo necesario para el tratamiento en serie de las dos diluciones. 20

El volumen crítico K puede ser obtenido utilizando la ecuación (C) y el método y el aparato de dilución (figura 3,) en los cuales el recuento bruto n se obtiene a partir de la muestra 32 y el recuento bruto n_r se obtiene 25 de la muestra 64 que ha sido diluida por el factor r . La solución general de la ecuación (C) permite obtener la serie siguiente, que converge cuando $F < 1$.



412967

$$(M) \quad K = \frac{3F}{n_r} \left[1 + (r-2)F + \frac{(r-2)(5r-7)F^2}{4} + \dots \right]$$

$$\text{donde } F = \frac{2}{3} \frac{n_r - n}{r(r-1)n_r} \quad \text{Cuando } r = 2,$$

5 la ecuación (M) se simplifica así:

$$(N) \quad K = \frac{2n_2 - n}{n_2^2} \quad \text{El valor de K se indicará en ml.}$$

si n y n_r son recuentos obtenidos a partir de 1 ml. de muestra.

10

La determinación que antecede del volumen crítico K supone que los incrementos de recuento debidos a la coincidencia secundaria y las pérdidas de recuento debidas a tiempos muertos del instrumento son insignificantes.

15

En los casos en los cuales la eliminación del primer término de corrección en la ecuación (A) es insuficiente para obtener la precisión deseada, el segundo término de corrección puede ser eliminado obteniendo un recuento suplementario mediante la utilización de un tercer orificio o de una tercera dilución.

20

Por el método de dilución de la figura 3, los recuentos de partículas se toman en la suspensión original, en una dilución por un factor r y en una dilución por un factor s , siendo $1 < r < s$. Supongamos que los recuentos sean respectivamente n , n_r , n_s . Resolviendo las tres ecuaciones simultáneas del tipo (A) para obtener el recuento corregido N_{rs} .

25

$$(O) \quad N_{rs} = \frac{1}{s-r} \left[\frac{s^3 n_s}{s-1} - \frac{r^3 n_r}{s-1} + \frac{(s-r)n}{(s-1)(r-1)} \right]$$

30



1975

En la figura 3 se supondrá que la muestra 64 es la muestra de suspensión original 32 diluida por el factor r, y que una muestra 64' ha sido diluida por el factor s.

Por medio del método de cambio de orificio de la figura 2, se toman recuentos brutos con tres orificios diferentes, y con los volúmenes de orificio K, K/R y K/S. Los recuentos son respectivamente n, n_R y n_S. Resolviendo las ecuaciones simultáneas correspondientes (A), para obtener el recuento corregido N_{RS}:

5

10

$$(P) N_{RS} = \frac{1}{S-R} \left[\frac{S^2 n_S}{S-1} - \frac{R^2 n_R}{R-1} + \frac{(S-R)n}{(S-1)(R-1)} \right]$$

15

En la figura 2, los orificios 34 y 36 tendrán los volúmenes críticos K y K/R, respectivamente, y un orificio 36' en un trayecto 36'-54' tendrá el volumen K/S. Dicho trayecto 36'54' contendrá igualmente conectados en serie, un amplificador 40', un umbral 44' y un acumulador 48', (de los cuales ninguno ha sido ilustrado particularmente), y el circuito de salida 54' produce el recuento n_S que se aplica a la computadora. 50.

20

25

30

Las enseñanzas del invento se aplican también al análisis de canales múltiples en el cual cada orificios ha de tener una pluralidad de circuitos de umbral conectados en paralelo proporcionando cada circuito de umbral unos impulsos de partícula a su propio acumulador, para definir los canales múltiples. Por ejemplo, consideramos solamente dos canales que tienen cada uno un valor de reglaje de umbral diferentes. Utilizando la ecuación (11) las fórmulas aplicables a los dos canales pueden ser escritas y a continuación restadas para formar una expresión que indica el número de partículas N en una



412967

gama dimensional dada.

$$(Q) \Delta N = \frac{r^2 \Delta n_r \Delta n}{r-1} . \text{ Por tanto, en el análi-}$$

5 sis de canales múltiples, la corrección de coincidencias para cada canal se hace substituyendo ΔN_r en lugar de N_r .

10 Aunque el modo de realización de la figura 3 es una mejora de los modos de realización de la figura 2, ya descritos, presenta ciertos inconvenientes, Si el tiempo y el equipo necesarios para realizar dos diluciones precisas y para hacer pasar cantidades iguales de muestra, así como el tiempo para tratar las dos diluciones secuencialmente pudieran ser eliminados, se obtendría así otra mejora importante respecto al invento básico; esto se hace por medio del modo de realización de la figura 4, en el cual pueden utilizarse los componentes que tiene los mismos números de referencia que en la figura 2.

15 El procedimiento del modo de realización de la figura 4 funciona sobre la premisa de que una sola muestra 32 que pasa a través de un solo orificio 34, puede proporcionar simultáneamente los recuentos brutos n y n_i . Para alcanzar esta meta, uno de los recuentos brutos n_i , se crea artificialmente a partir del mismo tren de impulsos de partículas que genera el recuento n . Utilizando los mismos impulsos de partículas tanto para n como para n_i , se producirán menos variaciones aleatorias que en el caso de utilizar dos orificios o dos muestras. Efectivamente, los recuentos n y n_i representan dos diluciones conocidas, habiendo sido sintetizada la dilución más fuerte a partir de la dilución más debil por medio de un dispositivo de retardo electrónico 68, e interponiendo un circui-

20

25

30



to sumador 70 entre el orificio 34 y un acumulador 48 de los acumuladores acoplados de las dos cadenas en paralelo.

5 Según se representa en las figuras 4 y 5, el tren de salida n de impulsos de partículas D a K procedente del orificio tipo Coulter 34 se aplica a través del amplificador 36 a un punto de unión 72 a partir del cual todo el tren de impulsos de partículas se aplica por tres circuitos separados al circuito de umbral 42, al dispositivo de retardo 68, y directamente al circuito sumador 70, este último mediante una línea de entrada 74. El tren retardado n' de impulsos D' a K' se aplica a partir del circuito de retardo al circuito sumador por una línea 76. El grado de retardo está representado en la figura 5 con referencia al tiempo que transcurre entre los impulsos F y F'. La duración del retardo puede ser elegida arbitrariamente casi a cualquier valor superior al que es capaz de crear un error de coincidencia entre un impulso y su contrapartida retardada.

10
15
20
25
30
Examinando en primer lugar el tren de impulsos n , se representan en él para mayor sencillez todos los que rebasan el bajo nivel de umbral 42 y se supone por tanto que proceden de partículas que interesan aplicar al acumulador 46. Sin embargo, el impulso de doble cresta K parece representar el paso no completamente simultáneo de dos partículas y el impulso de gran amplitud I podría representar el paso simultáneo de dos pequeñas partículas a través del orificio 34. Según se representa, con respecto al tren de impulsos n_1 , la suma de n y n' forma los impulsos individuales y no alterados D, E', F, F', G, H', I, I', J y K, así como los impulsos "combinados" D' + E, G' + H, y J' + K, que pueden cada uno acumularse bajo la forma de un solo impulso de partícula cuando su borde posterior cruza el umbral 44. Por tanto, los impulsos



D' y E pueden ser contados por separado; mientras tanto, los impulsos G' + H y J' + K producen pérdidas de recuento por coincidencia, siendo el impulso J' K probablemente un impulso tripe sintético, es decir que se han perdido dos recuentos. El hecho de que la separación aleatoria entre los impulsos G y H es igual al tiempo de retardo, es causa de que la suma de G' y H crea una situación de coincidencia simultánea de los impulsos G' + H, como el impulso A + B en la figura 1. De esta manera, los acumuladores 46 y 48 registrarán respectivamente $n = 7$ y $n_i = 13$ y los aplicarán a la computadora 78.

La computadora 78 puede ser la misma que la computadora 50 y recibirá n impulsos a su entrada por la línea 52 y n_i impulsos por la línea 54. El factor o la función de cálculo programada en la computadora 78 se desarrolla como sigue, representando $2N$ la cuenta sintetizada de doble concentración n_i si está corregido por si mismo respecto a las coincidencias, y $J = n_i/n$.

$$(19) \quad N = (1 + kn)n = n + kn^2 \quad y$$

(20) $2N = (1 + kn_i)n_i = n_i + kn_i^2$, multiplicando (19) por J^2 y (20) por n/n y n^2/n^2 , K puede ser descompuesto en factores de la siguiente manera:

$$(21) \quad J^2N = J^2n + J^2n^2k \quad y$$

(22) $2N = Jn + J^2n^2k$; restando (22) de (21), y dividiendo por J ,

$$(23) \quad JN - \frac{2N}{J} = Jn - n; \quad y \text{ por tanto resolviendo}$$

en función de N ,

$$(24) \quad N = \frac{Jn - n}{J - \frac{2}{J}} = Jn \frac{J - 1}{J^2 - 2}; \quad y$$



substituyendo $n_i/n = J$,

$$(25) \frac{n_i}{n} \cdot n \cdot \frac{\frac{n_i}{n} - \frac{n}{n}}{\frac{n_i^2}{n^2} - 2 \frac{n^2}{n^2}} = nn_i \frac{n_i - n}{n_i^2 - 2n^2}$$

5

Aunque los trenes de impulsos n y n_i no tengan bastantes impulsos para un análisis significativo y la obtención de su recuento corregido N , la fórmula (25), se aplicará al intervalo de tiempo t_0 a t_1 , siendo $n = 7$ y $n_i = 13$.

10

$$N = (13) (7) \frac{13 - 7}{169 - 98} = 91 \frac{6}{71} = 7,85$$

15

Suponiendo que el impulso I ha sido producido por una sola partícula, y que el impulso K ha sido producido por la coincidencia de dos partículas, el número real de las partículas tratadas era de 8 y la cantidad derivada N dañiere solamente en un 2% del recuento verdadero, contestación particularmente exacta para un cálculo basado solamente en siete acontecimientos. Se observará que en el funcionamiento normal de un contador Coulter, varios millares de partículas pueden ser tratadas en 1 segundo y por tanto los recuentos n y n_i serán muy importantes, incluso en un intervalo de tiempo muy corto desde t_0 hasta t_1 .

20

Además de, ó en lugar de, conectar la computadora 78 al elemento de lectura corregida 58, según se representa por medio de un interruptor 80, la computadora puede ser programada con una segunda función:

25

$$(26) K = S \frac{2n - n_i}{n^2}, \text{ a partir de la cual el volu-}$$

30

men crítico puede ser obtenido. Esta salida está representada esquemáticamente en la figura 4 como siendo capaz de ser aplicada a partir de la computadora 78 a través del interruptor

412967



80 a un dispositivo de lectura de volumen crítico 82.
 Según se indica en el diagrama, la posición del interruptor
 80 podría determinar cual de las operaciones de cálculo
 (25) o (26) se está realizando en cualquier momento. Natu-
 ralmente, ambas funciones podrían ser programadas para ob-
 tener una lectura simultánea de N y K.

5

Ya que la disposición de la figura 4 puede ser
 utilizada para conocer el volumen crítico, los problemas des-
 critos más arriba y relacionados con K pueden ser reducidos
 y los controles de producción y utilización del orificio
 propiamente dicho pueden ser mejorados.

10

La derivación de la ecuación (26) se da más ade-
 lante y la ecuación (27) puede ser comparada a la ecuación
 (1) de Grant, Britton y Kurtz, (medición de volumen de glóbulos
 rojos con un contador electrónico de células). American Journal
 of Clinical Pathology, Febrero 1960, volumen 33 nº 2 páginas
 138-143.

15

(27) $N = -1/d \ln(1 - dn)$, donde $d = K/S$, siendo S el vo-
 lumen total de la muestra analizada; entonces,

(28) $2N = -1/d \ln(1 - dn_1)$. Multiplicando ambos lados de las
 ecuaciones (27) y (28) por $-d$ y elevando a continuación e a la
 potencia de cada ecuación, la expresión logarítmica puede ser
 eliminada para obtener.

20

$$(29) e^{-dN} = 1 - dn \quad y$$

25

(30) $e^{-2dN} = 1 - dn_1$. Dividiendo (29) por (30) y
 simplificando,

$$(31) e^{dN} = \frac{1 - dn}{1 - dn_1} \quad . \quad \text{Se observará que la recíproca}$$

de la ecuación (29) es $e^{dN} = \frac{1}{1 - dn}$

30

que puede substituirse en la ecuación (31) para obtener

412967



$$(32) \frac{1}{1 - dn} = \frac{1 - dn}{1 - dn_i} . \text{ A continuación multipli}$$

cando los elementos intermedios por los extremos, desarro-
llando, dividiendo por d y extrayendo d, se obtiene:

$$5 \quad (33) \quad d = \frac{2n - n_i}{n^2} . \text{ Ya que por definición } d = \frac{K}{S} ,$$

se obtiene la ecuación (26).

En la descripción y en la explicación dadas
hasta aquí, el orificio de exploración resistivo tipo Coulter
10 ha sido utilizado como ejemplo de zona de detección a través
de la cual fluyen las partículas. Debe entenderse claramente
que la "zona de detección" no se limita a un orificio de de-
tección tipo Coulter y que, según se utiliza aquí (incluso
15 en las figuras 2-4) el término "orificio" no presenta carácter
limitativo y abarca otras formas de dispositivos de explora-
ción ópticos inclusive.

Para el recuento óptico de partículas, la suspen-
sión de partículas se hace en un chorro que atraviesa un vo-
lumen conocido K que está iluminado por un sistema óptico. Un
20 detector óptico o fotodetector "ve" el volumen iluminado y
produce un impulso de señal cada vez que una partícula que pa-
sa a través del volumen intercepta la luz. Pueden utilizarse
una gran variedad de medios técnicos para obtener los diferen-
tes recuentos brutos n, n_r, n_s o m, m_r, m_s etc., para el cál-
25 culo del recuento n corregido en función de las coincidencias
de acuerdo con las enseñanzas básicas del invento descrito aquí

Como en las figuras 2-4, pueden utilizarse dis-
positivos y métodos de recuento óptico tanto simultáneos como
secuenciales. Puede utilizarse un recuento secuencial con un
30 solo detector óptico, un solo volumen de detección K y un solo



chorro, proporcionando las diferentes diluciones de suspensión de partículas aplicadas secuencialmente, los diferentes recuentos brutos como en la figura 3.

5 Según se describirá con referencia a las figuras 6-8, puede obtenerse un dispositivo de recuento secuencial cambiando secuencialmente el volumen de detección K de un solo detector óptico, mediante el cambio del tamaño del haz de luz proyectado ópticamente en el chorro de solución (haciendo variar la anchura de la ranura).

10 Pueden obtenerse recuentos simultáneos ópticamente utilizando detectores múltiples de diferentes volúmenes y utilizando la disposición de la figura 2.

15 De acuerdo con el dispositivo de la figura 6, una zona de detección óptica 34' recibe una corriente de partículas a partir de la fuente de muestra 32 y un haz de luz a partir de una fuente luminosa 84 de acuerdo con dispositivos bien conocidos. La zona de detección 34' incluye un dispositivo 31 para cambiar su volumen de detección K de manera prede-

20 terminada, con lo cual pueden formarse dos o más volúmenes de detección diferentes en secuencia. Preferentemente, el tiempo durante el cual cada volumen de detección está en servicio se controla automáticamente, y el cambio de volúmenes es cíclico, como se describirá con relación a los modos de realización de las figuras 7 y 8.

25 Como consecuencia del cambio secuencial de los volúmenes de detección, permaneciendo constante la concentración de la muestra y el haz de luz, un fotodetector 86 recibirá los trenes de impulsos secuenciales, representada cada tren las partículas detectadas durante la presencia de su volumen de detección respectivo. Por medio de un amplificador

30 88 y de un umbral 90, una computadora 92 recibirá grupos se-

412967



cuenciales de impulsos que contienen cada uno un número de impulsos proporcional al número de las partículas detectadas durante los volúmenes de detección diferentes generados secuencialmente.

5

Se utiliza un dispositivo de control 94 y, según la naturaleza del dispositivo de cambio de volumen de detección 31, este dispositivo detecta y puede determinar también el volumen de detección que está presente, el tiempo del cambio y los parámetros cíclicos. La detección del cambio de un volumen de detección a otro se aplica por medio del dispositivo de control a la computadora para controlar su funcionamiento de una manera que depende de su función programada, tal y como se explicará más adelante. La salida de la computadora será la lectura corregida en función de las coincidencias que se simboliza por el bloque 96 en la figura 6.

10

15

Para un recuento secuencial de partículas utilizando dos volúmenes de detección diferentes R_v y v , siendo v el volumen más pequeño y con un ciclo de programación de T segundos, que empieza con la iluminación del volumen de detección v durante un tiempo $RT/R+1$, seguido por la iluminación del volumen de detección R_v durante un tiempo $T/R+1$, es fácil obtener la cuenta corregida si la computadora 92 está constituida por un contador sumador-restador y el dispositivo de control sitúa el contador 92 en el modo de adición durante el tiempo del volumen v , y a continuación conmuta el contador al modo de resta durante el tiempo del volumen R_v .

20

25

Si F = velocidad de circulación del volumen de fluido a través del volumen de detección (unidades de volumen por segundo),

30

T = ciclo de programación (segundos)

C = número de ciclos en el periodo de recuento



n = recuento registrado después de C ciclos

N_R = número calculado de partículas en una unidad de volumen de fluido.

R = multiplicador de relación de volumen crítico

n_R = recuento por unidad de volumen de suspensión durante v.

n₀ = recuento por unidad de volumen de suspensión durante Rv.

Por sustitución en la ecuación (F):

(R) N_R = $\frac{R n_R - n_0}{R-1}$. Igualmente, N = $\frac{FCT (R n_R - n_0)}{R+1}$;

por tanto,

(S) N_R = n $\frac{R+1}{(R-1)FCT}$. Un cálculo estadístico de los

errores indica que cuanto más importante es R tanto más cerca está N_R del número exacto de partículas. R = 3 es muy bueno.

La relativa facilidad con la cual ésta faceta del invento puede ser llevada a la práctica está demostrada por los modos de realización de los dispositivos de cambio del volumen de detección 31 que se representan en las figuras 7 y 8, y sus tablas correspondientes, presentadas más adelante.

Según se representa en la figura 7 que es solamente esquemática, un elemento de montaje 98 está interpuesto en el trayecto del haz de luz 100, preferentemente justo antes de la intersección del haz 100 y de la corriente de chorro de la suspensión de muestra. Montado de manera que pueda girar en el interior del elemento 98, se halla un disco 102 que tiene dos segmentos A y B de radios y ángulos subtensos diferentes A y B, respectivamente. El disco 102 y las porciones periféricas del elemento 98 son ópticamente opacas, según se indica por medio de sombreado en la figura 7. Toda la zona circular central del elemento 98 es ópticamente transparente y de hecho no ne-

412967



5

cesita estar presente físicamente salvo para soportar el disco giratorio 102. Por tanto, está hecha de una pieza anular ópticamente transparente 104 entre el disco 102 y el elemento 98. Ya que el radio del segmento B es inferior al segmento A, esta porción del elemento anular formada por el segmento B es más ancha. Por tanto, cuando el disco gira, existirán dos superficies de sección transversal diferentes del haz de luz 100 para el paso de éste a través del dispositivo de cambio de volumen de detección 31, penetrando en la corriente de chorro y llegando al fotodetector 86. Efectivamente, la anchura de la ranura se cambia automáticamente de manera precisa.

10

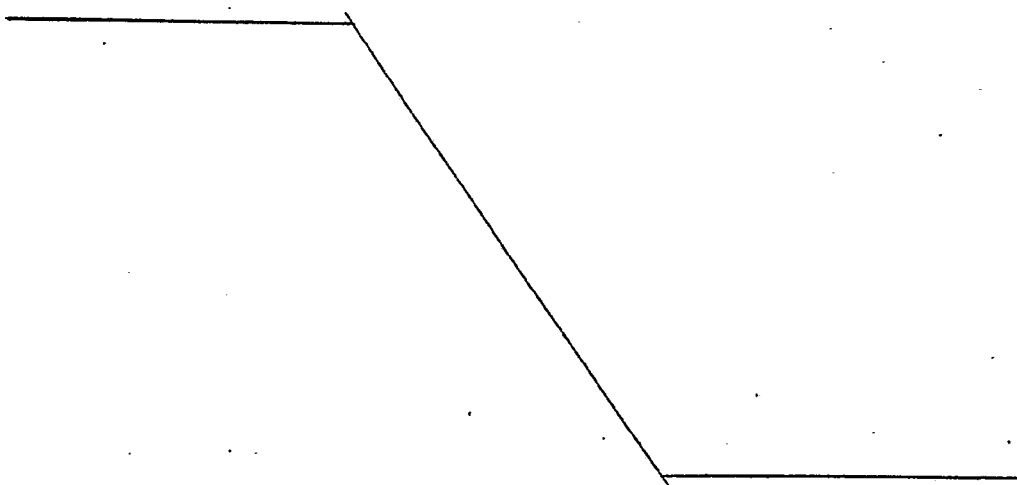
15

20

Ya que el volumen total de la muestra debe permanecer constante durante cada uno de los periodos de recuento secuanciales, y que la sección transversal del haz transmitido 100 presenta una relación directa con el volumen crítico, es posible determinar la duración de cada segmento A y B. Suponiendo que existe una velocidad de circulación constante de la suspensión de muestra, por lo menos para cada ciclo del disco 102, y una rotación uniforme del disco, los ángulos A y B pueden ser definidos para cualquier multiplicador de relación de volumen crítico, como se representa en la Tabla A.

25

30



412967



TABLA A

| | R | $\frac{R+1}{R-1}$ | $\frac{R}{R+1}$ | $\frac{1}{R+1}$ | A | B |
|---|---|-------------------|-----------------|-----------------|------|------|
| 5 | 2 | 3 | 2/3 | 1/3 | 240° | 120° |
| | 3 | 2 | 3/4 | 1/4 | 270° | 90° |
| | 4 | 5/3 | 4/5 | 1/5 | 288° | 72° |
| | 5 | 3/2 | 5/6 | 1/6 | 300° | 60° |

10 Durante la presencia del segmento A, el dispositivo de control 94 sitúa el contador sumador-restador 92 en el modo de suma, y durante el segmento B, el contador se sitúa en el modo de resta.

15 Si se necesitan tres volúmenes de detección diferentes, puede utilizarse la disposición de la figura 8. Según se representa aquí, se utilizan tres segmentos de disco C, D y E de modo que se obtenga la intersección del haz 100 con tres anchos secuencialmente diferentes del elemento anular 104.

20 Los volúmenes de detección son v , Rv y Sv , siendo $v < Rv < Sv$, siendo n_s el recuento durante el volumen Sv . El ciclo de programación empieza con la iluminación del volumen de detección v durante el tiempo $\frac{(S-R)T}{X}$, donde $X=S^2(R-1)+R^2(S-1)+S-R$, seguida por la iluminación del

25 volumen de detección Sv durante el tiempo $\frac{S^2(R-1)T}{X}$. El ciclo se termina por la iluminación del volumen de detección Rv durante el tiempo $\frac{R^2(S-1)T}{X}$.

La ecuación básica es:

30 (T)
$$N_{RS} = \frac{S^2(R-1)n_s + (S-R)n_o - R^2(S-1)n_R}{(S-R)(S-1)(R-1)}$$
 Igualmente,

412967



$$N = \frac{FCT}{X} [S^2 (R-1)n_S + (S-R) n_0 - R^2 (S-1)n_R] ;$$

por tanto,

$$(U) N_{RS} = n \frac{S^2 (R-1) - R^2 (S-1) + S-R}{FCT (S-R) (S-1) (R-1)} = \frac{N}{FCT} \cdot N_{RS}$$

5 es una mejor aproximación respecto al número verdadero de partículas que N_R .

La secuencia de los segmentos C, D y E no es crítica; sin embargo, durante la presencia de los segmentos C y E, el dispositivo de control 94 sitúa la computadora 92 en el modo de suma para los recuentos n_0 y n_S , mientras que está en el modo de resta para el recuento de N_R , durante la presencia del segmento D en el haz óptico 100. Comparando las tablas A y B, se observará que los parámetros están basados cada uno sobre sus condiciones individuales, pero proceden de las ecuaciones (F) y (T).

TABLA B

| R | S | $\frac{(S-R)T}{X}$ | $\frac{R^2(S-1)T}{X}$ | $\frac{S^2(R-1)T}{X}$ | C | D | E | |
|----|---|--------------------|-----------------------|-----------------------|------|-----|------|------|
| 20 | 2 | 4 | 1/15 | 6/15 | 8/15 | 24° | 144° | 192° |
| | 2 | 6 | 1/15 | 5/15 | 9/15 | 24° | 120° | 216° |

Aunque se han representado en lo que antecede varias fórmulas específicas para N , N_R y K , para varios orígenes y relaciones de n , n_i ..., estando dichas fórmulas programadas en las computadoras de las figuras 2-4 y 6, es posible que se puedan desarrollar otras fórmulas igualmente válidas para N , N_R y K , aplicándolas a continuación con resultados satisfactorios de acuerdo con los métodos y el aparato del invento que se reivindican aquí. Por consi-

412967



guiente, estas fórmulas específicas son solamente ejemplo de un grupo más amplio o genérico de relaciones funcionales matemáticas entre n , n_1 ..., que pueden ser utilizadas dentro del ámbito del invento.

5
Además, los peritos en la materia se darán cuenta de que, aunque los modos de realización del invento hayan sido descritos con relación a un analizador de partículas tipo Coulter e igualmente con una forma de analizador óptico de partículas, se aplican igualmente bien a cualquier aparato de recuento de partículas que utilice una zona de detección, ya esté energizada dicha zona de detección por un campo eléctrico, como en el "Contador Coulter", ya sea por energía luminosa, acústica, o bien por un campo magnético.

10
En resumen la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

15
REIVINDICACIONES

1. Método y su correspondiente aparato para la corrección automática de las variaciones de recuento de partículas debidas a coincidencias en un analizador de partículas del tipo de zona de detección cuyo método incluye las etapas que consisten en: generar una pluralidad de trenes de impulsos de partículas haciendo pasar por lo menos una parte de una muestra de partículas a través de por lo menos una zona de detección de un dispositivo detector de partículas del tipo dotado de zona de detección, caracterizado porque dicha etapa de producción de los trenes de impulsos incluye la etapa que consiste en crearlos de tal manera que definan una función matemática de interrelación, en la cual las únicas incógnitas son los números de impulsos en cada tren, realizar operaciones matemáticas sobre los recuentos acumulados en función del recuento corregido y de su relación funcional, y en obtener a

20
25
30



partir de dicha operación un recuento de partículas resultante de una cuenta corregida para tener en cuenta las variaciones de recuento debidas a coincidencias.

5 2. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha etapa de generación incluye el hacer pasar volúmenes iguales de una muestra de partículas separadamente a través de unas zonas detectoras cuyos volúmenes críticos tiene una relación conocida, y en hacer dicha acumulación de tal manera que el recuento de impulsos de un tren proceda solamente de una zona de detección y que el recuento de impulsos de otro tren proceda por lo menos en parte de todos los trenes asociados con otra zona detectora.

10 3. Método según la reivindicación 2, en el cual dicha etapa de generación incluye la transformación de las partículas en impulsos por unas zonas de detección que tienen volúmenes críticos iguales, caracterizado porque se hace dicha acumulación de tal manera que la suma aritmética de los impulsos de dichos trenes se acumule conjuntamente con el recuento de impulsos de uno de los trenes, y se adaptan dichas operaciones matemáticas con referencia a estos dos recuentos de impulsos acumulados.

15 4. Método según la reivindicación 2, caracterizado porque dicha etapa de acumulación incluye la disposición de dicha acumulación de tal manera que dicha cuenta de impulsos de cada tren proceda solamente de su zona de detección.

20 5. Método según la reivindicación 4, caracterizado porque dicha etapa de generación incluye la transformación de las partículas en impulsos por unas zonas de detección que tiene volúmenes críticos desiguales.

25 30 6. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, caracterizado porque dicha etapa de tratamien-

412967



matemático incluye la función.

$$N = nn_i \frac{2n_i - n}{2n_i^2 - n^2} .$$

5

7. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, caracterizado porque dicha etapa de tratamiento matemático incluye la función:

$$N_R = \frac{Rn_R - n}{R - 1}$$

10

8. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha etapa de generación incluye la formación de por lo menos dos diluciones diferentes de relación de dilución conocida de la muestra de partículas y que tienen el mismo volumen, y en hacer pasar dichas diluciones separadamente a través de una sola zona de detección para desarrollar por separado los trenes de impulsos para dicha acumulación.

15

9. Método según la reivindicación 8, caracterizado porque dicha etapa de operaciones matemáticas incluye la función:

$$N = 2nn_i \frac{n - n_i}{n^2 - 2n_i^2} .$$

20

10. Método según la reivindicación 8, caracterizado porque dicha etapa de operaciones matemáticas incluye la función:

$$N_r = \frac{r^2}{6} \cdot \frac{n_r - n}{r - 1}$$

25

11. Método según la reivindicación 8, caracterizado por la etapa que consiste en realizar operaciones matemáticas sobre los recuentos acumulados en función del volumen crítico de la zona de detección y en obtener como resultado el volumen crítico.

30

412967



12. Método según la reivindicación 11, caracterizado porque dicha etapa de operaciones matemáticas incluye la función:

5

$$K = \frac{2n_2 - n}{n_2^2}$$

13. Método según la reivindicación 1, en el cual dicha etapa de generación incluye el hacer pasar toda la muestra de partículas a través de una sola zona de detección para generar uno de los trenes de impulsos de partículas, caracterizado por la creación a partir de dicho primer tren del otro tren de impulsos para su acumulación por separado.

10

14. Método según la reivindicación 13, caracterizado porque dicha etapa de operaciones matemáticas incluye la función:

15

$$N = m n_i \frac{n_i - n}{n_i^2 - 2n^2}$$

15. Método según la reivindicación 13, caracterizado por la etapa que consiste en realizar operaciones matemáticas sobre ambos recuentos acumulados en función del volumen crítico en la zona de detección y en obtener como resultado el volumen crítico.

20

16. Método según la reivindicación 15, caracterizado porque dicha etapa de operaciones matemáticas incluye la función:

25

$$K = S \frac{2n - n_i}{n^2}$$

17. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, caracterizado porque dicha creación se hace añadiendo los impulsos del primer tren de impulsos propiamente dichos (no sus recuentos) a los mismos impulsos del tren de impulsos que han sido retardados.

30

412967



5 18. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha etapa de generación consiste en hacer pasar secuencialmente los volúmenes de muestra de partículas por separado a través de por lo menos dos zonas de detección del tipo óptico, en las cuales un haz de luz es proyectado a través de una corriente de partículas, de una manera conocida en sí, teniendo los volúmenes críticos de las zonas detectoras una relación conocida (R), y haciendo dicha acumulación de modo que los recuentos de impulsos de cada tren procedan solamente de su zona de detección.

10 19. Método según la reivindicación 18, caracterizado porque la relación de volumen crítico (R) se define cambiando efectivamente la anchura de la ranura del haz luminoso.

15 20. Método según la reivindicación 19, caracterizado porque dicha etapa de operaciones matemáticas incluye la función:

$$N_R = n \frac{R + 1}{(R-1) FCT}$$

20 21. Aparato para llevar a cabo el método de las reivindicaciones 1 a 20, que incluye un generador para producir una pluralidad de trenes de impulsos de partículas, incluyendo dicho generador por lo menos un dispositivo de zona de detección (34, 36, 36', 70) y un equipo para suministrar por lo menos una parte (32, 64, 64') de una muestra de partículas para hacerla pasar a través del dispositivo de zona de detección;

25 un acumulador (46, 48) para acumular el recuento de impulsos ($n, n_i \dots$) procedentes de cada uno de los trenes de impulsos y utilizar dichos recuentos como señales de salida; incluyendo además dicho generador una estructura de control (38, 42, 60, 66; 76, 78) que interconecta dicho dispositivo de zona de detección, dicho equipo de suministro y dicho acumulador para

30

412967



5 controlar la circulación de la muestra y la aplicación de los impulsos de partículas a dicho acumulador, caracterizado porque un dispositivo generador de la salida de recuento bruto está definido por la combinación de dicho generador y de dicho acumulador, estando dicho generador construido y dispuesto de tal manera que las señales de recuento de salida (n , n_1), presenten una relación funcional matemática de interrelación de acuerdo con su cuenta corregida en función de la coincidencia en términos que excluyen cualquier otra incognita; y una computadora (50; 62; 78; 92) acoplada para recibir las señales de salida y actuar sobre ellas de acuerdo con su relación funcional para obtener como resultado una cuenta de partículas corregida en función de las coincidencias,

10
15 22. Aparato según la reivindicación 21, caracterizado porque dicho generador incluye una fuente de suministro de muestra y unas zonas de detección, caracterizado porque los volúmenes críticos de las zonas de detección tienen una relación conocida, estando dicho generador construido y dispuesto (figura 2) con relación a dicha estructura de control para hacer pasar volúmenes iguales de muestras de partículas por separado a través de dichas zonas de detección y determinar el modo de acumulación por dicho acumulador, de tal manera que la cuenta de impulsos de un tren (n) proceda solamente de una de dichas zonas de detección (34) y la cuenta de impulsos del otro tren (n_1) proceda por lo menos en parte de la totalidad del tren asociado con dicha otra zona de detección (36).

20
25
30 23. Aparato según la reivindicación 22, en el cual dichas zonas de detección tienen volúmenes críticos iguales, caracterizado porque dicha estructura de control y dicho dispositivo acumulador están interconectados (60) de modo

412967



que la suma aritmética de los impulsos de dichos trenes se acumule para definir una de dichas señales de salida y la cuenta de impulsos de uno de los trenes se acumule para definir dicha otra señal de salida.

5

24. Aparato según la reivindicación 22, caracterizado porque dicho generador está construido y dispuesto para determinar el modo de acumulación utilizado por dicho acumulador, de modo que la cuenta de impulsos de cada tren proceda solamente de su zona de detección.

10

25. Aparato según la reivindicación 24, caracterizado porque dichas zonas de detección tiene volúmenes críticos desiguales.

15

26. Aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 25, caracterizado porque dicha computadora (50) está construida de manera que realice la operación matemática:

$$N = nn_i \frac{2n_i - n}{2n_i^2 - n^2}, \text{ en la cual dichas dos señales}$$

de salida son n y n_i .

20

27. Aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 33, caracterizado porque dicha computadora (50) está construida de manera que realice la operación matemática:

$$N_R = \frac{Rn_R - n}{R - 1}, \text{ en la cual dichas dos señales de sali-}$$

da son n y n_R .

25

28. Aparato según la reivindicación 21, en el cual dicho dispositivo de zona de detección tiene una sola zona de detección, caracterizado porque dicho equipo de alimentación (66) está construido y dispuesto para que forme porlo menos dos diluciones diferentes de relación de dilución conocida de la muestra de partículas y que tiene el mismo volumen para hacer pasar dichas diluciones por separado a través de la

30

412967



única zona de detección (figura 3) con el fin de desarrollar por separador los trenes de impulsos destinados a ser acumulados en dicho acumulador (46).

5 29. Aparato según la reivindicación 28, caracterizado porque dicha computadora (62) está construida de manera que realice la operación matemática siguiente:

$$N = - 2nn_i \frac{n - n_i}{n^2 - 2n_i^2}.$$

10 30. Aparato según la reivindicación 28, caracterizado porque dicha computadora (62) está construida de manera que realice la siguiente operación matemática:

$$N_r = \frac{\frac{r^2}{b} \cdot n_r - n}{r - 1}$$

15 31. Aparato según la reivindicación 28, caracterizado porque dicha computadora (62) está construida además para que realice operaciones matemáticas sobre las cuentas acumuladas en función del volumen crítico de la zona de detección con el fin de obtener como resultado el volumen crítico.

20 32. Aparato según la reivindicación 31, caracterizado porque dicha computadora (62) está programada para realizar la siguiente operación matemática.

$$K = \frac{2n_2 - n}{n_2^2}$$

25 33. Aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 28 a 32, caracterizado porque dicha estructura de control de circulación de la muestra (66) está unida (67) a dicha computadora (62) para controlar su funcionamiento, y porque dicha computadora (62) incluye un contador sumador y restador.
30



5

34. Aparato según la reivindicación 21, en el cual dicho dispositivo de zona de detección y dicho equipo de suministro aseguran (figura 4) el paso de toda la muestra de partículas a través de una sola zona de detección para generar uno de los trenes de impulsos de partículas, caracterizado porque dicha estructura de control incluye una estructura electrónica (68, 70) para crear, (n + n'), a partir de un tren (n) otro tren de impulsos (n_i) para su acumulación separada.

10

35. Aparato según la reivindicación 34, caracterizado porque dicha computadora (78) está construida de manera que realice la operación matemática siguiente:

$$N = nn_i \frac{n_i - n}{n_i^2 - 2n^2} .$$

15

36. Aparato según la reivindicación 34, caracterizado porque dicha computadora (78) está construida además para realizar operaciones matemáticas sobre ambas cuentas acumuladas (n, n_i) en función del volumen crítico de la zona de detección y para obtener así como resultado el volumen crítico.

20

37. Aparato según la reivindicación 36, caracterizado porque dicha computadora está programada para realizar la operación matemática.

$$K = S \frac{2n - n_i}{n^2} .$$

25

38. Aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 34 a 37, caracterizado porque dicha estructura electrónica incluye la combinación de un dispositivo de retardo de impulsos (68) y de un sumador de forma de ondas de impulsos (70) interpuestos entre dicho dispositivo de detección y dicho acumulador (46, 48) y acoplados mutuamente

30

412967



(72, 74, 76) para definir una de dichas señales de salida (n_i) sumando las formas de onda de un tren de impulsos (n) (no sus recuentos) con las mismas formas de onda (n') que han sido demoradas.

5

39. Aparato según la reivindicación 21, en el cual dicho generador incluye una fuente de suministro de muestra (32) y está dispuesto (31, 34') para definir secuencialmente por lo menos dos zonas de detección del tipo óptico (figura 6) en las cuales un haz de luz (84) es proyectado a través de una corriente de partículas, caracterizado porque los volúmenes críticos de las zonas de detección presentan una relación conocida (R), estando dicho generador construido y dispuesto con relación a dicha estructura de control (94) de hacer pasar volúmenes de muestra de partículas por separado a través de dichas zonas de detección y para determinar el modo de acumulación utilizado por dicho acumulador (92) de modo que la cuenta de impulsos de cada tren proceda solamente de su zona de detección.

10

15

20

40. Aparato según la reivindicación 39, caracterizado porque dicho generador incluye un dispositivo 31 para cambiar la relación de volumen crítico cambiando la anchura de la ranura del haz luminoso.

25

41. Aparato según la reivindicación 40, caracterizado porque dicha computadora (92) está programada para realizar la operación matemática siguiente:

$$N_R = n \frac{R + 1}{(R-1) \text{ FCT}}$$

30

42. Aparato según la reivindicación 39, en el cual el dispositivo (31) que sirve para cambiar la relación de volumen crítico está caracterizado por un disco giratorio (102) que tiene una pluralidad de segmentos diferentes,



(A, B, C, D, E,) de radios y ángulos subtensos diferentes, para interceptar de manera previsible el haz de luz (100) de modo que cambie su sección transversal antes de ser proyectado sobre la corriente de partículas.

5

43. Aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 39 a 42, caracterizado porque dicha estructura de control (94) está acoplada entre dicho dispositivo de zona de detección (31) y dicha computadora (92) para detectar por lo menos el volumen de detección crítico presente y para controlar el funcionamiento de dicha computadora.

10

44. Aparato según la reivindicación 43, caracterizado porque dicha computadora (92) es un contador sumador-restador.

15

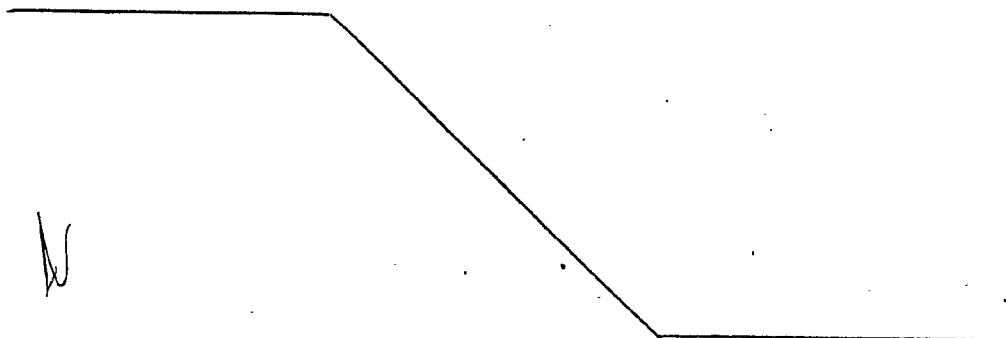
45. Aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 21 a 38, caracterizado porque dicho dispositivo de zona de detección incluye un orificio de exploración del tipo Coulter (figura 1), (34, 36).

20

46. Aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 21 a 44, caracterizado porque dicho dispositivo de zona de detección es de tipo óptico (31, 34').

47. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: METODO Y SU CORRESPONDIENTE APARATO PARA LA CORRECCION AUTOMATICA DE LAS VARIACIONES DE RECUENTO DE PARTICULAS.

25



30

412967



Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de cuarenta y ocho páginas mecanografiadas y dibujos adjuntos.

Madrid, 23 Marzo 1.973

BERNARDO UNGRIA

P.P.

5

10

15

20

25

30

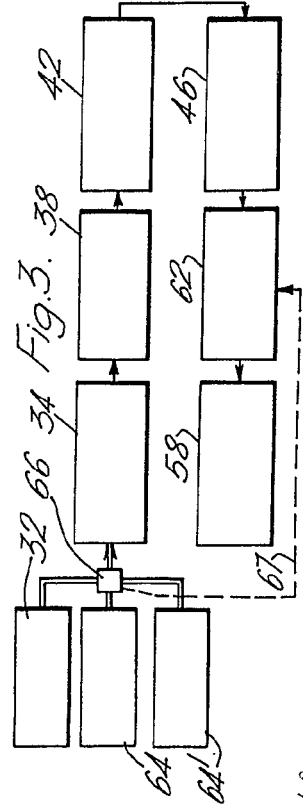
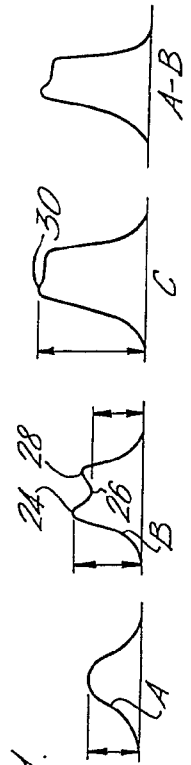
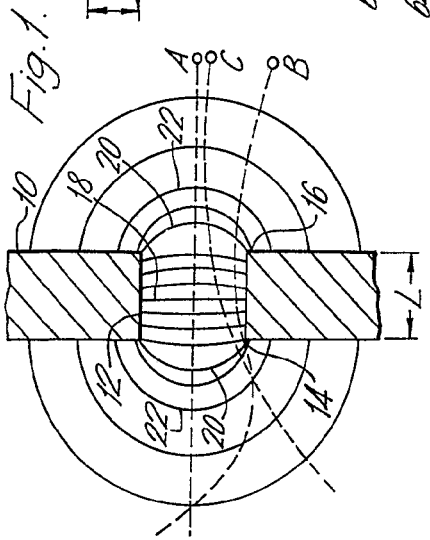
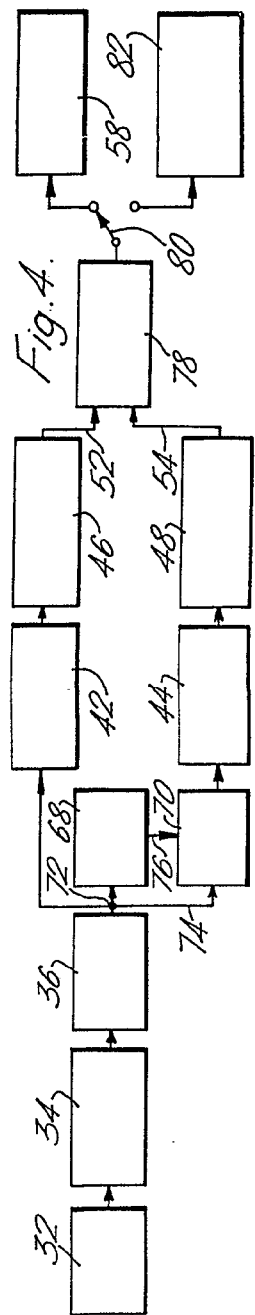
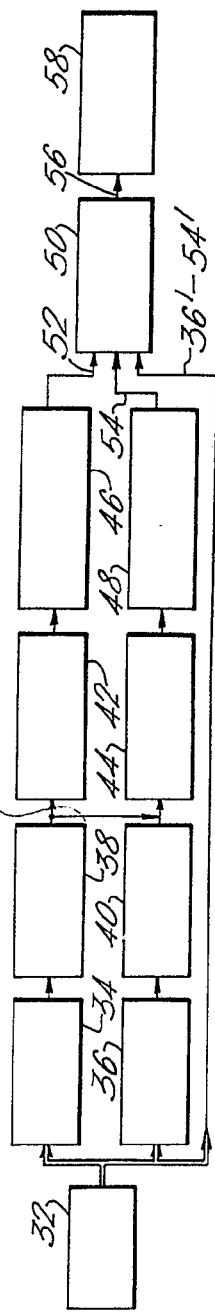
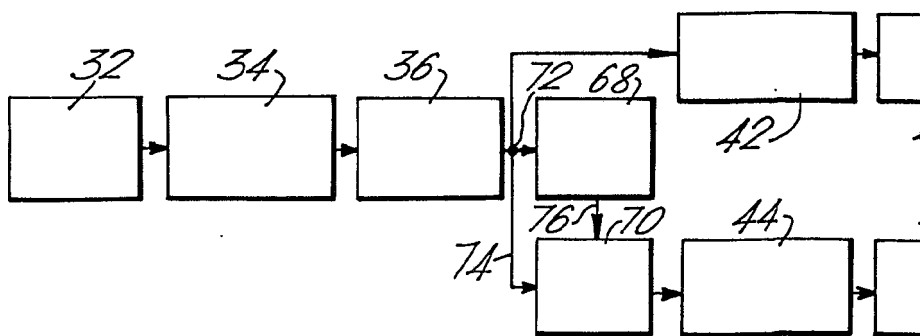
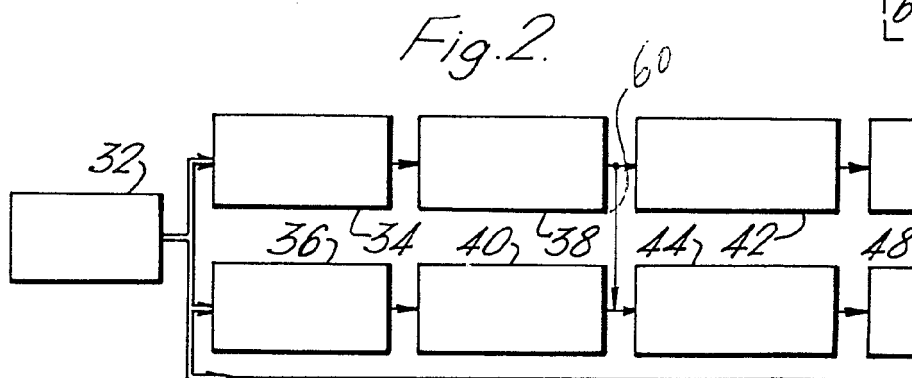
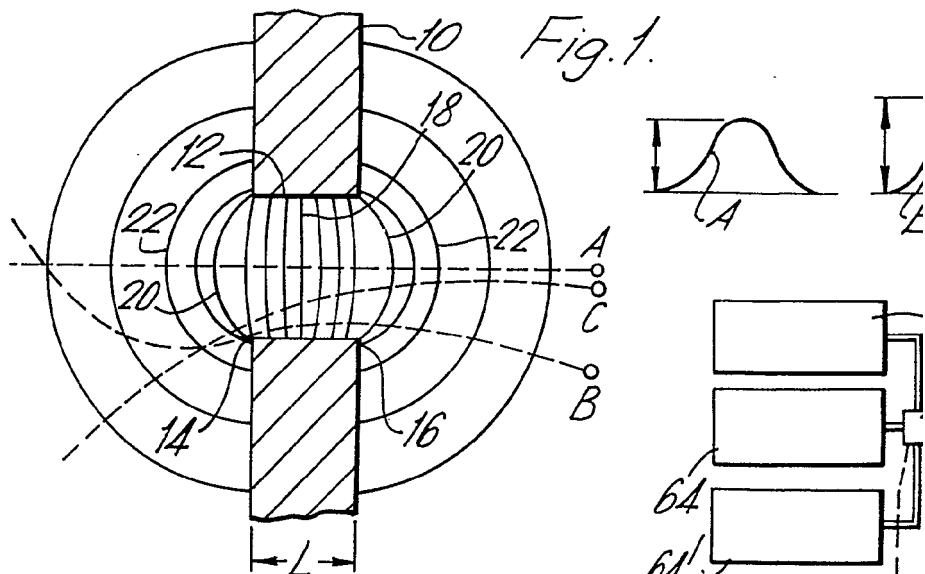
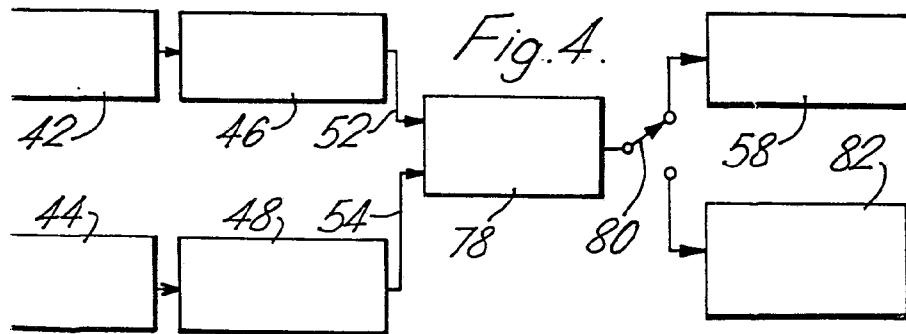
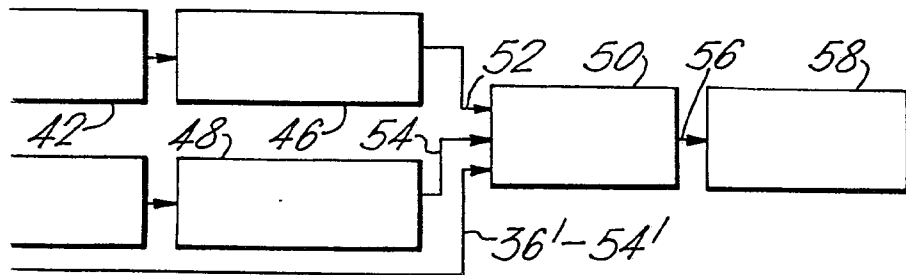
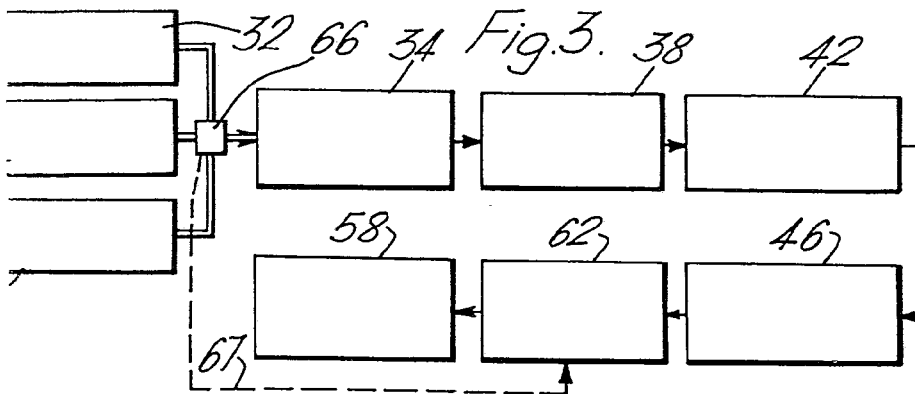
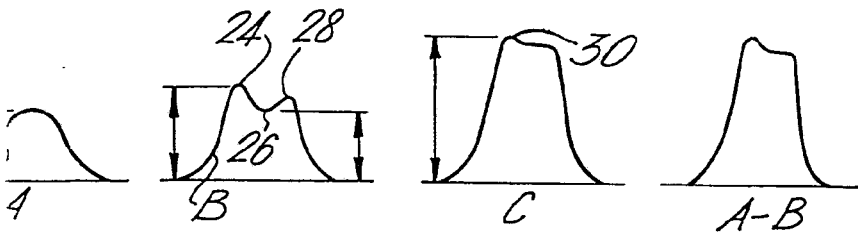


Fig. 2.



ESCUELA VARSAVENSE 73
 MADRID, 23 DE MARZO DE 1954
 BERNARDO UNGERIK
 P.F.





ESCALA VARIABLE 73
 MADRID, 23 de marzo DE 19 —
 BERNARDO UNGRÍA
 P. P.

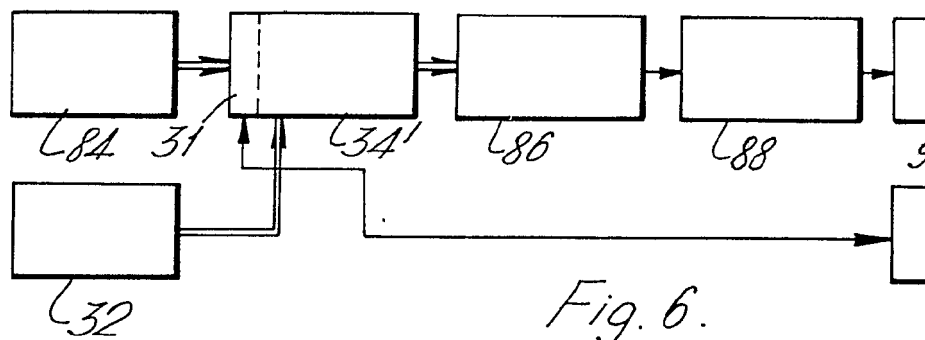
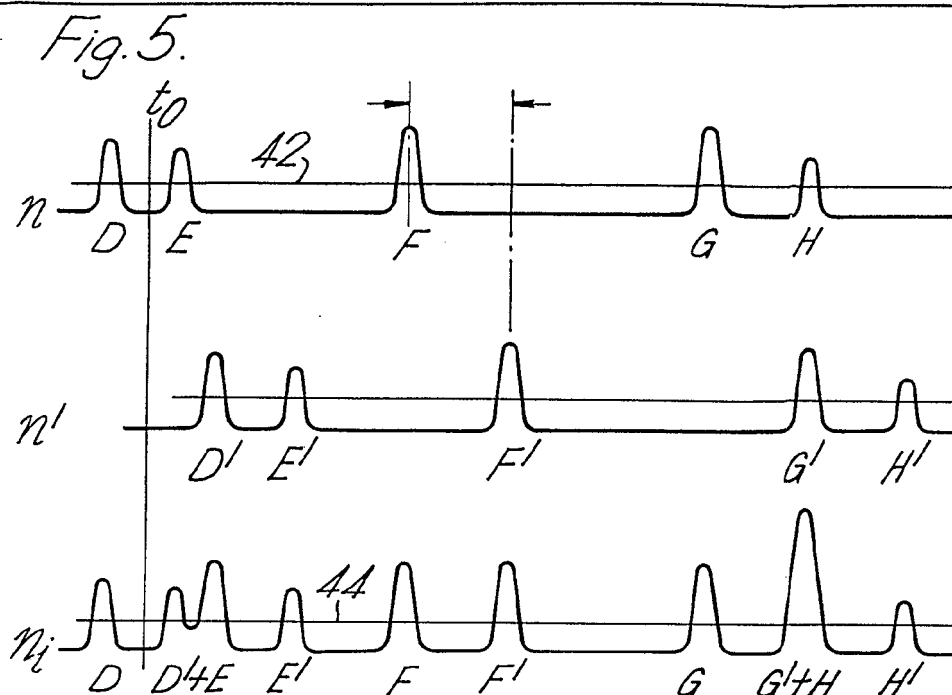
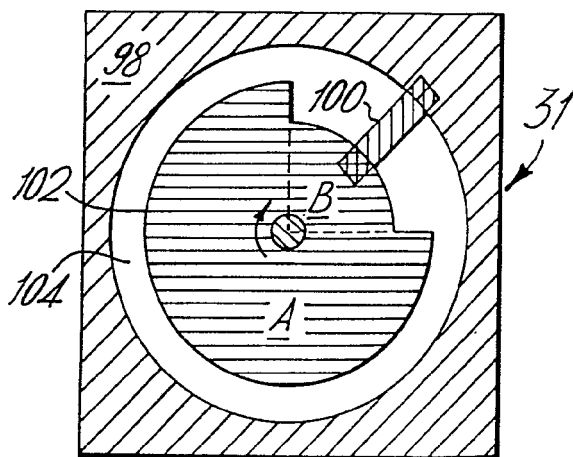


Fig. 6.

Fig. 7.



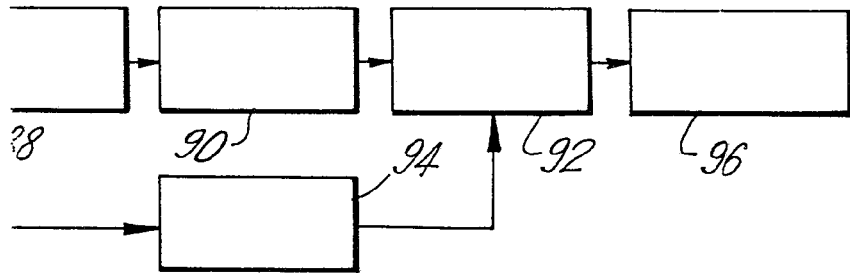
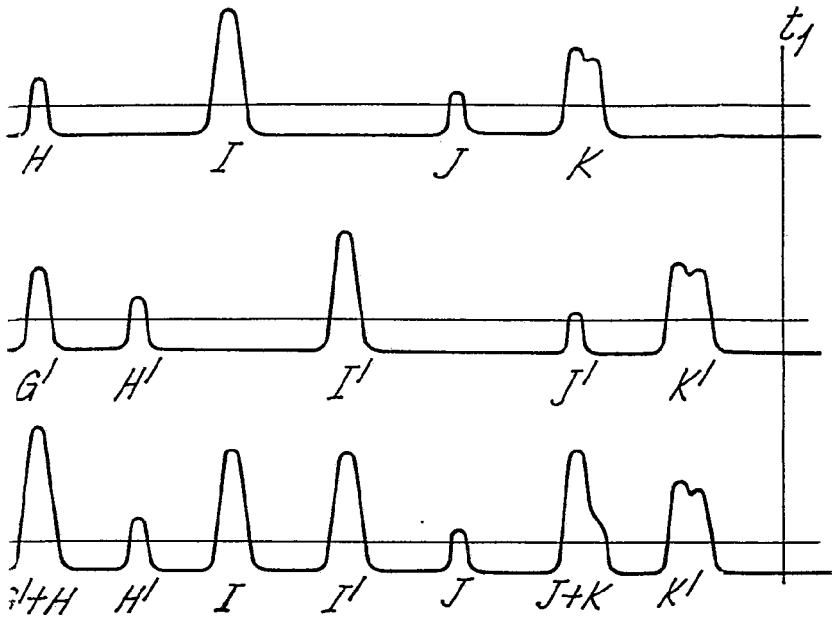
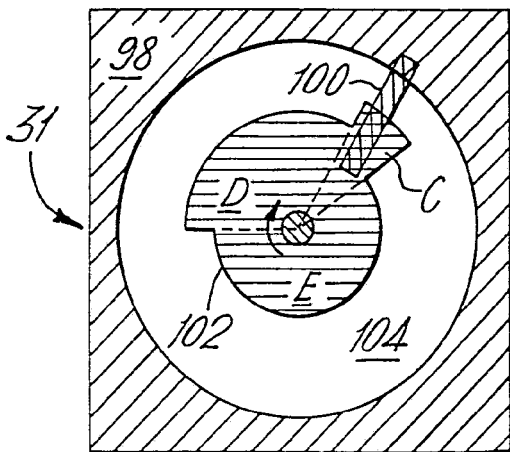


Fig. 8.



ESCALA VARIABLE
MADRID, 23 DE marzo DE 19 73
BERNARDO UNERIA
P. R.