

417075

20



417075

MEMORIA DESCRIPTIVA  
DE  
PATENTE DE INVENCION  
EN  
ESPAÑA

F.C. 2-7-75

int. Cl. G. 01 N

por veinte años

a favor de UNITED STATES ATOMIC ENERGY COMMISSION

con domicilio en Washington, Distrito de Columbia 20545,  
U.S.A.  
de nacionalidad Norteamericana

por "MEJORAS EN ANALIZADORES FOTOMETRICOS DINAMICOS, DE  
ESTACIONES MULTIPLES PARA PRUEBAS SEROLOGICAS".

de la que es inventor, Norman G. Anderson.

Reivindicándose prioridad de la Patente depositada en  
EE.UU. con fecha 2 de Agosto de 1.972, bajo el número  
277.192.



417075

Esta invención se refiere a un analizador fotométrico rápido, del tipo rotatorio, de estaciones múltiples, el cual es adecuado para efectuar funciones de división, mezclado, sedimentación, lavado, transferencia y absorberencia de luz de las muestras y reactivos. Dos grupos de cavidades están dispuestos en series anulares concéntricas, dentro de un disco adaptado para girar en torno a su eje central. El grupo externo en sentido radial de cavidades, constituye un sistema rotatorio de cubetas adecuado para mediciones fotométricas. Las cavidades en el grupo interno en sentido radial, designadas en la presente cavidades de carga, comunican, sobre la base de una por una, con las respectivas cavidades para las cubetas. Una barrera en declive está provista entre cada cavidad de carga y la correspondiente cubeta, para permitir la transferencia centrifuga de fluidos desde la cavidad de carga hasta la cubeta al ocurrir la rotación del disco, a la vez que evita la transferencia o retorno de fluidos en condiciones estáticas. Está provista una abertura a través de cada barrera para aumentar el mezclado en las cubetas. Un tubo de drenaje, accionado por vacío, se extiende en sentido radial hacia adentro desde un punto adyacente a la extremidad radial de cada cubeta, hasta una fuente de vacío para remover el líquido sobrenadante de las cubetas. Una cámara central para recepción y distribución, rodeada por acanaladuras para segmentación, está en comunicación de fluido con cada cavidad de carga para facilitar la carga dinámica o estática de estas cavidades.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION:

La invención se relaciona en general con analizadores



417075

fotométricos del tipo rotatorio, de estaciones múltiples, y con más particularidad, con un analizador fotométrico mejorado que se presta a pruebas serológicas que requieren el lavado o dilución repetidos de los particulados. Fue efectuada en el curso o bajo contrato con la Comisión de Energía Atómica de los Estados Unidos de Norteamérica.

Muchas pruebas serológicas involucran fenómenos mostrados por partículas suspendidas en líquido que tienen fijados a ellas antígenos o anticuerpos específicos. En los ejemplos básicos, estas pruebas incluyen células sanguíneas, células bacterianas y similares. En las pruebas desarrolladas más recientemente, tales como las descritas en la Solicitud correspondiente de los Estados Unidos, Serie No. 223.018 de cesionario común, los factores serológicos son enlazados a partículas portadoras con estabilidad química, tales como cuentas de resinas sintéticas. El enlace de anticuerpos o antígenos adicionales en estas partículas portadoras, pueden dar por resultado una reacción de aglutinación que puede ser observada en forma directa. En otros casos, las partículas portadoras que ya han reaccionado, pueden ser separadas en forma centrífuga del líquido para suspensión mediante sedimentación, con o sin una gradiente de densidad de líquido y el factor serológico enlazado a las mismas en forma secundaria, puede ser identificado por un cambio en el régimen de sedimentación de partículas o de densidad de formación de bandas.

La mayoría de las pruebas serológicas del tipo precedente, requieren la sedimentación centrífuga de las partículas portadoras y repetidas etapas de lavado. Los dispositivos reales mediante los cuales se efectúen las diversas reac--



417075

ciones, los reactivos específicos utilizados, los tiempos de reacción y la secuencia de las etapas de lavado y reacción, pueden variar en forma considerable para diferentes pruebas. El exclusivo modo de funcionamiento en paralelo de los analizadores fotométricos rápidos del tipo de cubetas rotatorias en las cuales las muestras y los reactivos son mezclados en un campo centrífugo y las mediciones de absorbencia o fluorescencia son hechas en una multiplicidad de mezclas reactivas durante la rotación, los hace interesantes para usarse en la automatización de análisis inmunológicos. Esto requiere el desarrollo de un rotor para cubetas que permita el lavado extenso de los eritrocitos u otras partículas portadoras, la reacción con uno o más reactivos (con lavados intermedios, si es necesario) y la determinación del grado de aglutinación, grado de hemólisis y la presencia o ausencia de anticuerpos marcados por fluorescencia o radiactividad en el sobrenadante o el sedimento.

Es, por lo tanto, un objeto general de la invención proveer un analizador fotométrico rápido del tipo de cubetas rotatorias, que es adecuado para análisis inmunológicos que requieren lavados repetidos de las partículas portadoras.

Otro objeto más particular de la invención es proveer un analizador fotométrico rápido, del tipo de cubetas rotatorias, que sea capaz de efectuar funciones de división, mezclado, sedimentación, lavado, transferencia y absorbencia de luz de muestras y reactivos.

Otros objetos de la invención serán aparentes con un examen de la siguiente descripción de una ejecución preferida y de las cláusulas reivindicatorias.

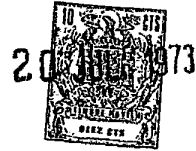
RESUMEN DE LA INVENCION:



417075

De acuerdo con la invención, se ha provisto un analizador  
fotométrico, del tipo de cubetas rotatorias, de estaciones  
múltiples, el cual es capaz de efectuar funciones de divi-  
sión, mezclado, sedimentación, lavado, transferencia y ab-  
5 sorbencia de luz de muestras y reactivos. Dos grupos de ca-  
vidades están dispuestos en series concéntricas dentro de  
un disco adaptado para girar en torno a su eje central. El  
grupo radial en sentido externo de cavidades, constituye un  
sistema de cubetas rotatorias, en el cual se hacen las medi-  
10 ciones fotométricas. Las cavidades en el grupo interno en  
sentido radial de cavidades, designadas en la presente cavi-  
dades de carga, comunican, sobre la base de una con una, con  
las respectivas cavidades en el grupo radial en sentido ex-  
terno. Una barrera entre cada cavidad de carga y una cubeta  
15 correspondiente, permite la transferencia centrífuga de flui-  
dos al ocurrir la rotación del disco, a la vez que evita la  
transferencia o retorno de fluidos en condiciones estáticas.  
Un conducto que se extiende en sentido radial, ubicado en  
dirección angular con un lado de la barrera, da por resulta-  
20 do un mezclado mejorado dentro de las cubetas. Un tubo de  
drenaje se extiende en sentido radial hacia adentro desde un  
punto adyacente a la extremidad radial de cada cubeta, has-  
ta una fuente de vacío para retirar el líquido sobrenadante  
de las cubetas, después de la sedimentación de partículas  
25 dentro de ellas. Una cámara central, receptora y de distri-  
bución rodeada por acanaladuras de segmentación, está en co-  
municación de fluido con cada cavidad de carga para facili-  
tar la carga de estas cavidades en condiciones estáticas o  
dinámicas. El uso del analizador de la presente permite e-  
30 fectuar análisis serológicos múltiples que requieren etapas

417075



repetidas de lavado o dilución y de sedimentación en una forma rápida.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

5 La figura 1 es una vista seccional, vertical, muy esquemática, de un analizador fotométrico, rotatorio, de estaciones múltiples, construido de acuerdo con la invención.

La figura 2 es una vista superior en planta del conjunto de rotor utilizado en el analizador fotométrico de la figura 1;

10 las figuras 3,4,5,6,7, y 8 ilustran el funcionamiento del conjunto de rotor de la Figura 2 al efectuar funciones de reacción, sedimentación, lavado y transferencia de fluidos.

DESCRIPCION DE LA EJECUCION PREFERIDA

15 La Figura 1 ilustra, en vista seccional vertical, un analizador fotométrico construido de acuerdo con la invención. Un conjunto de rotor 1, de forma plana, incluye un cuerpo 2 de rotor de acero con bridas, placas 3 y 4 de vidrio o plástico transparente, un disco 5 de politetrafluoroetileno u otro plástico que define las cavidades de carga y las cubetas y un anillo 6 de brida atornillado para ajustar a las placas 20 3 y 4 y al disco 5 dentro del cuerpo 2 del rotor. Las placas 3 y 4 y el disco 5 están emparedados juntos entre el cuerpo 2 del rotor y el anillo 6 de brida para formar las cavidades de carga 7 y las cubetas 8, que están dispuestas en series anulares concéntricas en radios respectivamente crecientes 25 del rotor. Los tubos de drenaje 9 se extienden desde un punto adyacente a la extremidad radial de cada cubeta 8 hasta una cámara distribuidora 10 central para vacío, la cual pasa a través del eje 11 de impulsión y soporte, hasta una fuente 30 de vacío (que no se ilustra). Una barrera 12 en declive, se-

417075



para cada cavidad de carga 7 de una correspondiente cubeta  
8 en condiciones estáticas, a la vez que permite la transfe  
rencia centrífuga de líquidos desde las cavidades de carga  
a las cubetas. Los rebajos 13 en la placa 4 están ubicados  
5 directamente encima de cada barrera 12 para permitir que el  
líquido circule sobre la barrera hacia adentro de las cubetas  
8 durante la rotación del conjunto de rotor. El declive, es  
paciamiento y orientación de las cavidades de carga 7, cube  
tas 8 y líneas de drenaje 9 se ilustran en forma adicional  
10 en la vista en planta de la Figura, 2, la cual se describe  
más adelante.

Las cubetas 8 están diseñadas para permitir el análisis  
fotométrico simultáneo de una multiplicidad de muestras dis  
cretas. Para facilitar esos análisis, están provistos en el  
15 cuerpo del rotor, 2, una multiplicidad de agujeros 14 espa  
ciados, alineados en dirección axial con las cubetas 8 y son  
en número igual a ellas, La luz que pasa por los agujeros 14  
prosigue a través de la placa transparente 3, de las cubetas  
8, y de la placa transparente 4 hasta un fotodetector, como  
20 se indica en forma esquemática con una línea quebrada en la  
Figura 1. Un sistema de fuente de luz fotométrica, dispositi  
vo fotodetector y otros componentes electrónicos accesorios  
adecuados para usarse con el conjunto de rotor de la presen  
te, se describen en la solicitud correspondiente de los Es  
25 tados Unidos, del mismo solicitante, Serie No. 784.739. Ese  
sistema no será descrito en la presente, dado que la inven  
ción en este caso, es una mejora restringida al diseño del  
conjunto de rotor y su método de uso y no abarca los compo  
nentes asociados descritos en la solicitud correspondiente.

30 Con referencia ahora a la Figura 2, en la cual se ilustra

417075



una vista en planta del disco 5, sólo se ilustran dos de los dieciseis pares de cavidades de carga y cubetas, para fines de sencillez del dibujo. Una cámara central 15 de distribución de líquido, está provisto con una periferia acanalada en la forma de hojas 16 segmentadoras de corriente, para dividir el líquido introducido durante la rotación, en volúmenes en esencia iguales y para distribuir los volúmenes así divididos a sus respectivas cavidades de carga y cubetas. Como se ilustra, los conductos 17 que se extienden en sentido radial, están ubicados en dirección angular con un lado de cada barrera 12, para permitir el paso de líquido a lo largo del lado correspondiente de las cavidades mezcladoras 7 y las cubetas 8, aumentando con ello la acción de mezclado en las cubetas 8, mediante un efecto de circulación de vórtice ilustrado en la figura 5. El funcionamiento de las cavidades de carga 7, cubetas 8, barrera 12, conducto 17 y tubos de drenaje 9 será mejor comprendido consultando las figuras 3 a 8, en donde se ilustra, paso a paso, el funcionamiento del analizador fotométrico de la presente.

La carga inicial de muestras de sangre u otra suspensión 18 particulada, se hace primero en condiciones estáticas, como se ilustra en la figura 3. El acceso a las cavidades de carga 8 se puede lograr a través de la abertura 19 en la placa 4 (Figura 1) con cualquier aparato adecuado para carga, tal como una jeringa hipodérmica. Como alternativa, se puede usar un disco pequeño de transferencia (que no se ilustra) para efectuar la operación de carga de muestras. En la figura 4 se ilustra la transferencia centrífuga de la muestra 18 al extremo radial de una correspondiente cubeta 8. La transferencia de la muestra a la cubeta 8 se logra porque la muestra

417075



5 pase sobre la barrera 12 en declive a lo largo de los espacios libres provistos por los rebajos 13 en la placa 4. Como se ilustra, las muestras son extendidas en una capa delgada sobre la pared radial externa 20 de cada cubeta 8, por la acción centrífuga.

10 En la Figura 5 se ilustra una corriente de diluyente siendo dirigida contra las hojas 16 de segmentación. Después de chocar con las hojas 16, el diluyente dividido circula a lo largo de un lado de cada cavidad de carga 7, a lo largo del conducto 17, y, luego, hacia adentro de la cubeta 8, en donde se mezcla con la muestra 18. La fuerza de Coriolis ocasiona que la corriente de diluyente pase a lo largo de la cavidad de carga 7 de la cubeta 8 en la forma ilustrada. La corriente de diluyente puede ser un líquido para lavado, tal como una solución salina fisiológica o un reactivo, tal como una solución de anticuerpos, dependiendo del análisis en particular que se esté efectuando y de la etapa del análisis. El mezclado rápido y completo de la mezcla y el reactivo o de los líquidos para lavado que se logra con la presente invención, ha sido reconocido desde hace mucho tiempo como deseable y necesario para un análisis exacto. Después de la adición del diluyente como se ilustra en la Figura 5, los particulados de la mezcla son sedimentados por la fuerza centrífuga contra la pared externa 20 de la cubeta 8, como se ilustra en la Figura 6, dejando el líquido 21 sobrenadante. Luego, el líquido 21 sobrenadante o superpuesto es removido mediante la aplicación de vacío por medio del tubo de drenaje 9, como se ilustra en la Figura 7. Como alternativa, la abertura 19 en la placa 4 puede ser cerrada, y aplicar aire u otro gas a presión a la cámara central, a través de un se-

15

20

25

30



417075

llo adecuado. Los pasos repetidos de lavado y/o reacción, pueden ser iniciados después como se muestra en la Figura 8, agregando otra vez un diluyente adecuado durante la rotación, volviendo a suspender los particulados y volviendo a sedimentarlos. Después del lavado, se pueden agregar y remover diversos reactivos en secuencia. La aglomeración se puede medir determinando el régimen al cual las partículas vuelven a suspender son sedimentadas, utilizando técnicas fotométricas en la forma usual. Utilizando un haz delgado de luz, tal como el que se obtiene de una fuente de luz de hendidura, se puede observar la sedimentación de las partículas al pasar por una posición radial fija, observando la salida del fotodetector. Para la medición del régimen o velocidad de sedimentación, se pueden emplear dos fuentes de luz de hendidura, espaciadas en diferentes posiciones radiales y medir el tiempo requerido para que el lindero de la sedimentación pase de un radio al otro.

Los rotores para cubetas hechos de acuerdo con la invención, pueden ser utilizados para fines de sedimentación, para clarificar el líquido que contenga un particulado suspendido, antes de determinar la absorbencia del líquido sobrenadante que permanece después de la sedimentación. Los fenómenos del particulado, incluyendo la aglomeración, lisis, fluorescencia y radiactividad, pueden ser observados en forma continua, mediante dispositivos detectores adecuados. Los fenómenos del líquido sobrenadante, incluyendo la densidad óptica, dispersión de la luz, fluorescencia, radiactividad y absorbencia de luz, también pueden ser observados.

Los rotores para cubetas hechos de acuerdo con la invención, pueden ser utilizados para fines de sedimentación, para clarificar el líquido que contenga un particulado

417075



5 suspendido, antes de determinar la absorbencia del líquido sobrenadante que permanece después de la sedimentación. Los fenómenos del particulado, incluyendo la aglomeración, lisis, fluorescencia y radiactividad, pueden ser observados en forma continua, mediante dispositivos detectores adecuados. Los fenómenos del líquido sobrenadante, incluyendo la densidad óptica, dispersión de la luz, fluorescencia, radiac-  
10 tividad y absorbencia de luz, también pueden ser observados.

La descripción anterior de una ejecución de la invención se presenta para fines ilustrativos y no debe ser interpre-  
15 tada en un sentido limitativo. Por ejemplo, los tubos de drenaje 9 pueden ser cambiados de orientación para descargar en una cámara de vacío en torno a la periferia del disco 5 o pueden ser cambiados de lugar para que comuniquen con los fondos de las respectivas cubetas 8, de modo que las cé-  
20 lulas lavadas u otros particulados puedan ser recuperados de las cubetas con el rotor en reposo, para pruebas en otros instrumentos. Esos cambios de lugar requerirían que los tubos de drenaje 9 estuvieran inclinados hacia la placa 4, para evitar el drenaje o vaciado de las cubetas por efecto  
25 tan sólo de la gravedad, a la vez que permitieran la recuperación forzada por vacío o presión. Además, se puede ejecutar una amplia variedad y secuencia de paso de lavado y reacción utilizando el analizador de la presente, dependiendo del análisis en particular. Se pretende que la invención sólo quede limitada por el alcance de las cláusulas reivin-  
dicatorias.

• NOTA:

30 Se reivindican como propios y nuevos, para que sean objeto de una Patente de Invención en España, por veinte años

417075



reivindicándose prioridad de la Patente depositada en E.E.UU. con fecha 2 de Agosto de 1.972, bajo el número 277.192, los puntos siguientes:

5 1.- Mejoras en analizadores fotométricos dinámicos, de es-  
taciones múltiples para pruebas serológicas, que incluye un  
conjunto de rotor que define una serie circular de cubetas  
para análisis de muestras, adaptado para pasar en forma repe-  
tida entre una fuente de luz y un fotodetector para el análi-  
sis fotométrico del contenido de la cubeta, caracterizadas  
10 porque el conjunto mejorado de rotor define: una serie cir-  
cular de cavidades de carga dispuesta concéntrica con la se-  
rie circular de cubetas para análisis de muestras, estando  
cada una de las cavidades de carga en alineación radial con  
una correspondiente cubeta en la serie circular de cubetas;  
15 barreras en declive interpuestas entre las cavidades de car-  
ga y las cubetas, para evitar la transferencia de líquido en-  
tre ellas en condiciones estáticas, a la vez que permiten la  
transferencia centrífuga de líquidos, desde las cavidades de  
carga hasta las correspondientes cubetas, definiendo cada u-  
na de las barreras un conducto para mezclado orientado en sen-  
tido radial, el cual está ubicado en sentido angular con un  
lado de la barrera y se extiende a través de la barrera, y  
un conducto de drenaje que comunica con cada una de las cu-  
betas en un punto adyacente a la extremidad radial de la cu-  
beta, conduciendo el conducto de drenaje desde la cubeta has-  
25 ta una fuente externa de vacío.

30 2.- Mejoras en analizadores fotométricos dinámicos, de es-  
taciones múltiples para pruebas serológicas, según reivindi-  
cación 1, caracterizadas porque el conducto de drenaje se ex-  
tiende en sentido radial hacia adentro, por lo menos tan le-





417075

jos como las barreras en declive.

3.- Mejoras en analizadores fotométricos dinámicos, de estaciones múltiples para pruebas serológicas, según la reivindicación 1, caracterizadas porque cada uno de los conductos de mezclado orientado en sentido radial, está alineado en dirección radial con una pared lateral de una cavidad de carga y cubeta correspondientes.

4.- Mejoras en analizadores fotométricos dinámicos, de estaciones múltiples para pruebas serológicas, según la reivindicación 1, caracterizadas porque está provista una cámara central de carga y distribución adyacente al borde radial interno de las cavidades de carga, y en el cual la cámara tiene una periferia acanalada para ocasionar que el líquido alimentado dentro de ella sea distribuido en esencia por igual a las cavidades de carga mientras está girando el conjunto de rotor.

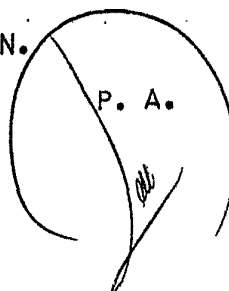
5.- "MEJORAS EN ANALIZADORES FOTOMETRICOS DINAMICOS, DE ESTACIONES MULTIPLES PARA PRUEBAS SEROLOGICAS".

Todo conforme se describe en la Memoria que antecede, se ilustra como ejemplo de ejecución en los planos unidos a ella y se reivindica en su Nota.

Esta Memoria consta de trece hojas foliadas, escritas a máquina por una sola cara y planos que la acompañan.

Madrid, 20 de Julio de 1.973

UNITED STATES ATOMIC ENERGY COMMISSION.



417075

20 JUL

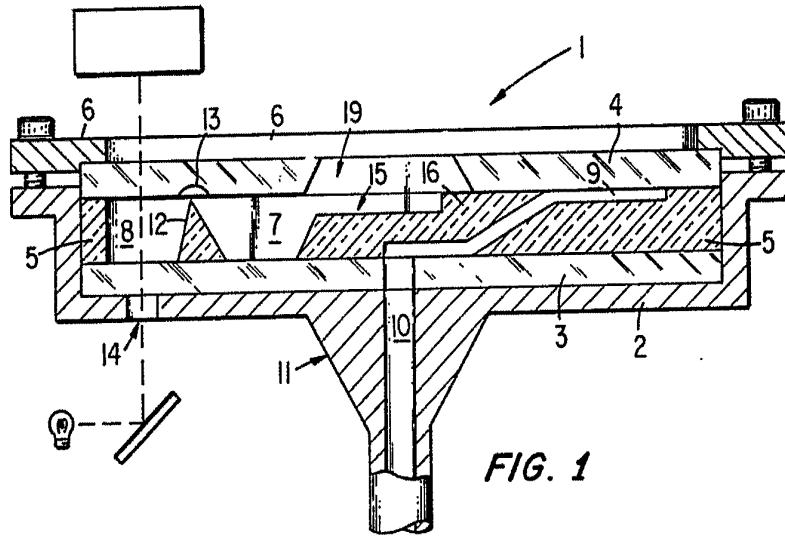


FIG. 1

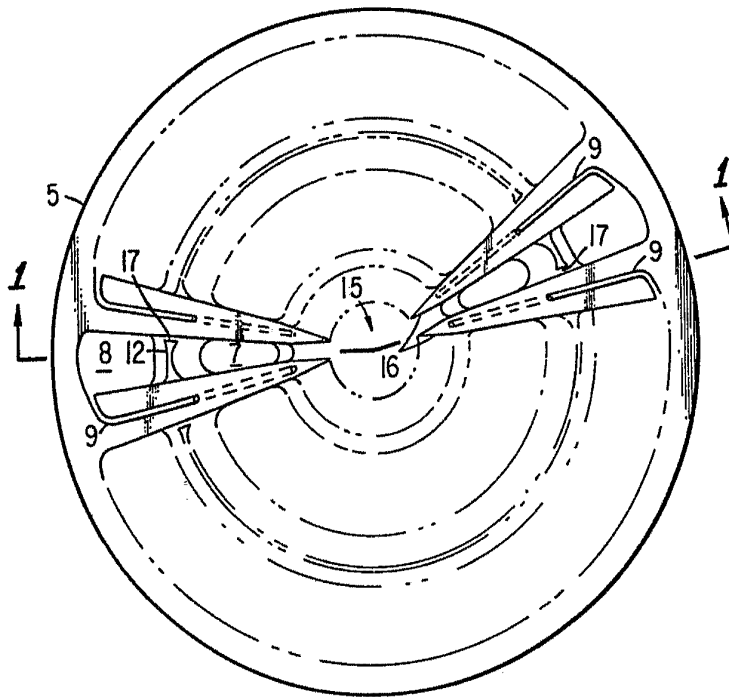


FIG. 2

ESCALA VARIABLE  
Madrid 20 JUL 1973  
P. A.

417075

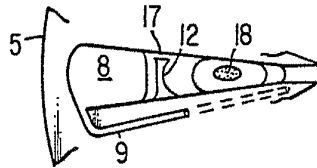


FIG. 3

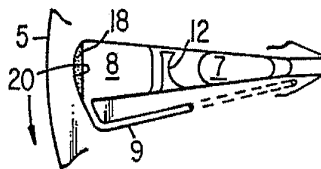


FIG. 4

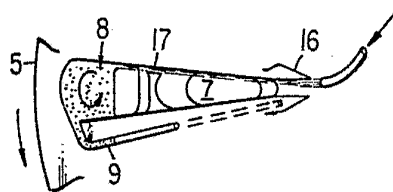


FIG. 5

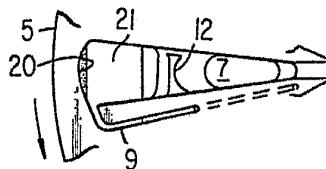


FIG. 6

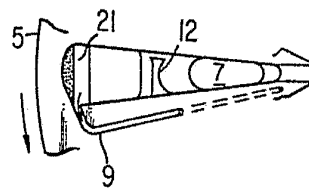


FIG. 7

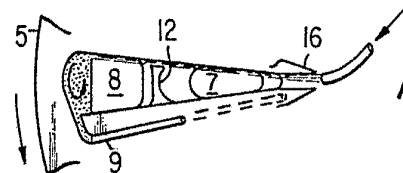


FIG. 8

ESCALA VARIABLE  
Madrid 20 JUN 1973  
P. A.