

425523 P. 57.280
C 461.001
Spain
"CARTRIDGE"
Div.

20 FEB. 1974

MEMORIA DESCRIPTIVA

GOLN

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de AKRO-MEDIC ENGINEERING INC.

entidad norteamericana

establecida en 23 Mountain Avenue, Rockaway, Nueva
Jersey 07866, Estados Unidos de América

por: "UNA CAPSULA AUTONOMA DE CONSTRUCCION UNITARIA
PARA UN APARATO ANALIZADOR DE FLUIDOS BIOLOGI-
COS" (Clase Internacional GOLn)

8.4.74
CONCIBIDA
21 MAYO 1976

La presente invención se refiere a un método y aparato para efectuar determinaciones de bacteriología médica y química clínica por medio de variaciones de turbidez, color u otras propiedades ópticas que sirven de indicación de la actividad biológica, el contenido o la condición o estado de la muestra sometida a examen. Más en particular, esta invención se refiere a un aparato para determinar automática y continuamente el índice, tasa o velocidad de desarrollo de bacterias, por medios fotométricos.

La muestra o espécimen puede ser un fluido biológico obtenido de un paciente, tal como suero, plasma, orina, líquido cefalorraquídeo, heces o un fluido nutriente o reactivo artificialmente preparado, capaz de sostener o poner de manifiesto fenómenos en correspondencia con un estado, actividad o contenido de tipo patológico, fisiológico, químico o metabólico.

La práctica clínica actual en bacteriología y microbiología médicas tiene mucho que ver con el aislamiento y la valoración de bacterias patógenas a partir de muestras de interés clínico. Tales muestras pueden provenir tanto del paciente (por ejemplo, su sangre, orina, exudado de heridas u otro fluido biológico) como de su ambiente inmediato o etiológico: por ejemplo, los alimentos, el aire, el agua u otros factores de un siste-

ma de vectores patológicos infecciosos o comunicables. En concomitancia con la identificación de un agente patógeno viral, micótico o bacteriano en una muestra, viene el requisito de determinar cual es el agente anti-
5 biótico eficaz contra el patógeno concreto y específico, y hasta que grado es eficaz en comparación con otros agentes quimioterapéuticos a disposición del clínico como tratamiento del caso.

El ensayo de fluidos biológicos para determinar "in vivo" niveles de antibiótico cae asimismo dentro del ámbito de la microbiología médica, si bien la ejecución del proceso es mucho menos frecuente que las mencionadas identificaciones de efectividad o sensibilidad para con los antibióticos, término derivado de la "sensividad" del organismo del sujeto o paciente para con un medicamento. El procedimiento de ensayo resulta extremadamente difícil de llevar a cabo en las condiciones de que actualmente se dispone en el laboratorio, y como tal se usa sólo en la investigación, o en casos de importancia clínica extremada. Aun cuando la información que se deduce de un procedimiento como ese resulta muy valiosa para el clínico, ello representa una imposición anormalmente rigurosa y ardua sobre el personal de laboratorio.

25 La determinación de la mínima concentra-

ción inhibitoria (MIC) de la efectividad de un antibiótico contra un determinado germen patógeno particular, cae también dentro del ámbito de la microbiología médica, si bien no se suele efectuar con tanta frecuencia como la de la sensibilización a los antibióticos.

Los procedimientos de identificación de la técnica ya conocida, en el laboratorio bacteriológico, se basan en la valoración taxonómica de cultivos desarrollados en un medio sólido o gelificado, la valoración microscópica inmunofluorescente o el cambio de color de un medio nutriente, de tal modo que el desarrollo bacteriano viene indicado por la reacción con los productos metabólicos derivados de tal desarrollo. También puede prepararse un medio nutriente que sostenga o favorezca el desarrollo de gérmenes o clases de gérmenes patógenos específicos con exclusión de otros, y que indique tal desarrollo por medio de un cambio de color.

Recientemente ha habido cierto número de intentos encaminados a satisfacer la necesidad de automatizar los laboriosos métodos manuales para la determinación de la sensibilidad de un organismo. Si bien existe cierto número de dispositivos automáticos en el mercado, no vienen resolviendo éstos con eficacia los problemas de contaminación mutua o cruzada entre muestras ni la lenta velocidad de análisis, ni han proporcionado un

medio conveniente de ingreso y escape aleatorio de muestras durante el ciclo de desarrollo bacteriano. A causa de su complejidad, los dispositivos automáticos ya conocidos requieren gran proporción de espacio de laboratorio y mucho mantenimiento.

5

Son ejemplos de tales dispositivos complicados ya conocidos, para analizar muestras fotométricamente en una pluralidad de cubetas, los que se revelan en diversas patentes recientes, entre las que se incluyen las de Wood y col., patente de EE.UU. número 3.523.737, y de Kuzel y col., patente de EE.UU. número 3.609.040. Estos dispositivos contienen una pluralidad de partes móviles que requieren un constante mantenimiento y reducen su fiabilidad. Existe la necesidad, sentida desde hace mucho tiempo, de disponer de un aparato basado en el uso de principios fotométricos, que al mismo tiempo sea de proyecto simplificado, casi sin partes móviles y en el que todas las operaciones se lleven a cabo por medios neumáticos y opto-electrónicos.

10

15

20

En una aplicación, cual es la de la industria de los tintes en géneros textiles, enteramente distinta a la del presente invento, se ha descrito un colorímetro (patente de EE.UU. número 3.531.208, de Ward) en el que una pluralidad de muestras de tinte es medida ópticamente por medio de una pluralidad de detectores y una

25

pluralidad de amplificadores, comparándose la medida con una carta de colores normalizada. Esta referencia se indica aquí para poner de manifiesto el estado general de la técnica colorimétrica ya conocida.

5 El aparato de la presente invención proporciona un analizador de fluidos biológicos que permite hacer pruebas de sensibilidad para con los antibióticos y otros procedimientos afines con un costo reducido de mano de obra, tiempo e inversiones, y anima de ese modo al clínico a utilizar métodos hasta ahora considerados impracticables a causa de dichos costos.

El aparato comprende:

- a) una pluralidad de cubetas;
- b) una cámara para el fluido;
- 15 c) medios de poner la cámara en comunicación de fluido con cada una de las cubetas y para permitir el paso de fluido desde la cámara a cada una de las cubetas;
- d) una pluralidad de medios ópticos de transmisión en coincidencia con cada una de las cubetas, para transmitir un haz de energía radiante a través de cada una de las cubetas; y
- 20 e) unos medios detectores para interceptar cada uno de los haces de energía radiante y para medir toda variación óptica de la energía radiante que pa
- 25

sa a través del fluido contenido en cada una de las cubetas.

La pluralidad de cubetas y la cámara constituyen una caja o cápsula autónoma de construcción unitaria, que puede hacerse a poco coste de un plástico transparente rígido tal como, por ejemplo, el poli(cloruro de vinilo), el poliestireno cristalino y similares, resultando así de un solo uso la cápsula entera y eliminándose el uso repetitivo de un equipo no desechable, y eliminándose también el problema de la contaminación mutua de muestras patogénicas.

La cámara constituye la parte superior de la cápsula, que está llena del medio nutriente o de cultivo. La pluralidad de pequeñas celdillas o cubetas están en comunicación de paso de fluido con la cámara mayor, por medio de una pluralidad de medios de válvula situados en el suelo de la cámara, encima de cada una de las cubetas, a fin de permitir el paso de fluido en un solo sentido. Cuando la cápsula está colocada en un carro que aloja la pluralidad de medios de transmisión y los medios detectores, cada una de las cubetas queda en coincidencia con los mismos.

Se prevén unos medios de agitación para hacer vibrar mecánicamente el carro completo y efectuar la agitación de la suspensión. Además, es posible dispo

ner unos medios neumáticos que permitan la aireación (el borboteo) del fluido contenido en la cámara y en las cubetas.

5 Entre la cápsula de un solo uso y el ca-
rro que aloja los medios de transmisión y de detección se establece una conexión neumática adecuada. Al llegar del carro una señal apropiada, se aplica un gra-
diente de presión diferencial entre la cámara superior y las celdillas inferiores, el cual hace que el conte-
10 nido de la cámara superior pase a las inferiores a través de unos medios de válvula (por ejemplo, una membrana permeable) cuya presión de iniciación sea inferior al gradiente de presión diferencial aplicado a los mismos. En comunicación de paso de fluidos gaseosos con
15 cada una de las cubetas hay unos medios de barrera para líquido, permeables a los gases, de manera que permiten al gas inicialmente presente en cada una de las cubetas escapar de la cápsula, facilitando el paso de fluido pro-
cedente de la cámara superior a fin de llenar por completo las cubetas, pero impiden el paso del líquido a su
20 través.

 El método de la presente invención comprende los pasos o etapas siguientes: 1) poner un líquido biológico (por ejemplo, una suspensión biológica) en
25 la cámara; 2) colocar una formación o disposición regu-

lar de material de oposición o ataque biológico (por ejemplo, discos de papel impregnados de agente antibiótico liofilizado) en el interior de por lo menos una parte de la pluralidad de cubetas; 3) observar las variaciones de las propiedades ópticas del fluido hasta alcanzarse por lo menos la condición deseada de las propiedades ópticas, y hacer pasar luego unas porciones del fluido por separado a por lo menos parte de las cubetas que contienen el material de oposición o ataque, produciendo así una formación o disposición regular de muestras de fluido esencialmente idénticas expuestas a dicha formación de materiales de ataque biológico; 4) valorar la variación de las propiedades ópticas del contenido de cada una de las cubetas; y 5) mantener sensiblemente constantes las temperaturas del fluido, por unos medios adecuados de control de la temperatura.

Como resultado de la operación 3 arriba indicada, por ejemplo, el antibiótico contenido en el disco se rehidrata y forma una suspensión de antibiótico y microorganismos con el medio. La valoración del antibiótico viene determinada por la respectiva potencia del antibiótico en cada una de las cubetas y por el volumen de cada cubeta, que es constante en el aparato de esta invención. La tasa de desarrollo de las bacterias, en este ejemplo, se evalúa por medio de la pluralidad de sistemas detecto-

res ópticos individuales situados cada uno en coincidencia con su cubeta respectiva, o bien por medio de un solo detector óptico largo que esté en coincidencia óptica con todas las cubetas de la cápsula.

5 Hay medios electrónicos de cálculo, tales como los ordenadores y/u otros dispositivos calculadores ya conocidos, de los cuales se puede disponer para evaluar la salida de los medios detectores y hacer los cálculos apropiados, sea por medios analógicos, sea por medios numéricos, para registrar y presentar los resultados de manera apropiada e inteligible. Entre estos resultados se incluyen las variaciones en la tasa o velocidad de desarrollo en cada cubeta, las variaciones relativas entre la cubeta de control que no contiene anti-
10 biótico alguno y las cubetas de muestra, y la relación global entre cada una de las cubetas y las demás, si es necesario. Los detectores van conectados en común, y sus salidas puestas en serie pasan por un solo canal electrónico de amplificación a los medios de cálculo, en tanto que el establecimiento de secuencia del intervalo de
15 observación se efectúa excitando en serie la circuitería de fuentes de luz, o multiplicando las fuentes de luz, con arreglo a unas instrucciones previamente programadas. Los resultados de las observaciones son amplificados,
20 normalizados, corregidos en cuanto a su línea de base o
25

referencia y puestos en términos de expresión numérica ("numerizados") o por dígitos, para facilitar su presentación en un formato claro y clínicamente inteligible, sea por impresión o escritura alfanumérica, registro en
5 forma de gráficos y/o presentación en tubo de rayos catódicos, de manera ya conocida en la técnica del ramo.

Los indicados y otros objetos y rasgos ca racterísticos de la presente invención se desprenderán fácilmente de la descripción detallada que sigue con referencia a los dibujos adjuntos, en los cuales:
10

- la figura 1 es una vista general en perspectiva de la cápsula de cubetas de plástico de un solo uso;

- la figura 2 es una vista general en
15 perspectiva de la cápsula de cubetas colocada en su sitio dentro de un módulo de detección;

- la figura 3 es una perspectiva parcial de detalle, en sección, de la conexión neumática estableceda entre la cápsula y el módulo de detección;

- la figura 4 es una perspectiva en sección tomada por el eje óptico de los sistemas ópticos superior e inferior del conjunto de cápsula y módulo de detección;

- la figura 5 es un alzado de la cápsula,
25 en sección tomada por el eje A-A de la fig. 1;

- la figura 6 es un alzado en sección tomada por el eje B-B de la fig. 1;
 - la figura 7 es una vista en alzado, en sección tomada por el eje óptico de la fig. 4, con el fluido de muestra representado en la cámara superior;
 - la figura 8 es una vista como la de la fig. 7, pero con el fluido de muestra representado en la cámara inferior;
 - la figura 9 ilustra una pluralidad de cápsulas y módulos de detección ensamblados como en la fig. 2 pero dispuestos ahora en una configuración múltiple, con una cubierta de control ambiental y con los elementos componentes de salida de control alojados en una caja contigua;
 - la figura 10 es un esquema funcional por bloques, de los componentes electrónicos requeridos en la forma de ejecución preferida;
 - la figura 11 es un esquema eléctrico de principio del módulo de corrección de la línea de base, de la fig. 10; y
 - la figura 12 es un alzado en sección tomada por el eje óptico de la fig. 4, con el disipador de calor de la subplaca controlada en temperatura representado en íntimo contacto térmico con el carro 20.
- Con referencia ahora a las figs. 1, 5 y 6,

la cámara superior 1 y la pluralidad de cubetas 2 constituyen la cápsula 3 de un solo uso. A todo lo largo de la cápsula 3 se representa situado el canal tubular 4, que está puesto en comunicación de fluidos gaseosos con cada una de las cubetas 2 por medio de unos orificios 8 y consta de un material permeable a los gases como, por ejemplo, el politetrafluoretileno multicelular de baja densidad. El tubo 4 está dentro del canal no permeable 9. Este rasgo característico crítico de la presente invención se describe más adelante con mayor detalle, en relación con el estudio de las figs. 2, 3, 7 y 8. Encima de la cámara 1 va dispuesta una lumbrera de entrada o admisión 10 a través de la cual se hace pasar el fluido biológico a valorar. Dentro de la lumbrera de entrada 10 está situado en posición el bucle de inoculación 11. Por ejemplo, una toma de contacto aislada, del organismo usado en un determinado ensayo, se transporta a la cámara 1 por medio del bucle de inoculación 11, a través de las lumbreras de entrada de la cápsula 3, y es aislada o separada luego por medio del capuchón 12. Unos discos 14 se impregnan a diversas concentraciones con el antibiótico, u otro reactivo químico que se quiera valorar, convenientemente liofilizado, y por lo menos uno de los discos se introduce en el interior descargado o ahuecado de cada tapón 15, situado en cada una de las cubetas 2

como se representa en los dibujos.

A este punto, la cápsula 3 se halla dis-
puesta para su introducción en el bastidor 20 de un mó-
dulo de detección 21 como el ilustrado en las figs. 2,
5 3 y 4. El bastidor 20 puede estar construido de alumi-
nio u otro metal ligero, por mecanizado, colada o extru-
sión. En la superficie exterior de la cápsula 3 está
el código 23, que bien puede estar en tinta magnética u
óptica, o bien ser un panel codificado de depresiones
10 percibidas mecánicamente. El código 23 se halla en coin-
cidencia y coopera con unos perceptores apropiados 32,
montados en el bastidor 20, para instruir al control 34
de programa (representado en la fig. 10) de la presente
invención en cuanto al ensayo que vaya a hacerse con la
15 cápsula particular. También puede programarse otra in-
formación, tal como la identificación de la muestra o el
paciente, para su interpretación por los perceptores 32
de manera que el módulo de detección 21 pueda identifi-
car adecuadamente la cápsula para el cálculo de salida.
20 Además, los perceptores 32 ponen en marcha el módulo de
detección 21, colocándolo en su estado operativo y po-
niéndolo a la cápsula 3 en la secuencia de programa ade-
cuada. Todas las cápsulas son exploradas por el siste-
ma óptico a un intervalo de tiempo nominal preselecciona-
25 do.

Dentro del miembro 35 de soporte óptico del módulo de detección 21 va montado el sistema óptico para la cámara superior 1, el cual comprende una fuente de energía radiante o de luz 40, colimada y condensada por medio de una lente 41 y una abertura 42. El haz óptico atraviesa la pared transparente de la cámara 1 y la muestra o espécimen de fluido contenido en ella, y pasa luego a través de la pared opuesta de la cámara 1, incidiendo sobre la superficie activa del fotodetector 45 de inóculo. El medio presente en la cámara 1 se evalúa por este sistema óptico a cada intervalo hasta que, por ejemplo, su turbidez alcanza un valor prefijado. La introducción originaria de la cápsula 3 en el módulo de detección 21 indica el control de programa 34 que el desarrollo de células en la cámara 1 es el único que hay que vigilar, ya que aún no se ha producido la transferencia a las cubetas 2. El fotodetector 45 transmite una señal eléctrica al amplificador 46 de detección de inóculo (ilustrado en la fig. 10), el cual compara la turbidez o la variación total de turbidez en la cámara 1 con el calor preseleccionado que corresponde a la concentración de células deseada. Al alcanzarse esta concentración, el amplificador de fotodetección 46 envía al control de programa 34 una señal de conmutación que activa las válvulas neumáticas (de solenoide) 49 de la fig. 10. Las

válvulas 49 suministran un vacío al tubo 4, creando una diferencia de presiones de un lado a otro de la membrana permeable 50, lo cual hace que el fluido (por ejemplo, la suspensión bacteriana) contenido en la cámara 1 fluya a las cubetas 2 por el orificio 8. La transferencia de fluido se produce solamente cuando la presión diferencial a través de la membrana permeable 50 es lo bastante alta para superar la presión de iniciación de paso o flujo de la membrana. Tras esta transferencia, las cubetas 2 se llenan completamente de fluido y el gas de cada cubeta es desplazado a través de los orificios 8 y de las paredes del tubo 4 permeable al gas, saliendo luego por la lumbrera neumática 51, y por el tubo de salida 52 a la atmósfera o a los medios de eliminación de gases (no representados). El tubo 4 permeable al gas presenta para con el líquido una efectiva barrera, que impide el paso de líquido.

La fig. 7 ilustra la condición en que se halla la cápsula 3 durante el período en que la cámara 1 está esencialmente llena de fluido, y el haz óptico de la fuente de luz 40 ilumina su contenido al atravesarlo. La fig. 8 ilustra la condición de la cápsula 3 durante el final de la transferencia, representando la válvula 50 en su posición de abierta y estando las cubetas 2 completamente llenas de fluido. Al llegarse a este punto,

se activa o habilita el sistema óptico para las cubetas 2, y la fuente de luz 55 da un flujo de fotones puesto en colimación por medio de la lente 56 y la abertura 57 y transmitido a través de las paredes transparentes de las cubetas 2 y del fluido contenido en ellas, hasta incidir en la superficie activa del fotodetector 58 de inculo. Unos conductores eléctricos 60 y 61 proporcionan la conexión entre el control de programa 34 y las fuentes de luz 40 y 55, respectivamente. De igual modo, unos conductores 63 y 64 proporcionan la conexión entre el fotodetector 45 y el amplificador de fotodetección 46, y entre el fotodetector 58 y el amplificador de fotodetección (AMP) 66 que amplifica la señal procedente de la multitud de elementos fotodetectores de cubeta del fotodetector 58, respectivamente. Para los conductores eléctricos 60, 61, 63 y 64 se dispone un cable 65 de varios conductores. En el bastidor 20 va montada una pantalla 70 por encima del fotodetector 58 y de los conductores eléctricos 63 y 64 de las cubetas 2.

A los fines de la ilustración, se supone que hay diez cubetas por cápsula. Una de las cubetas 2 (la cubeta nº 1) se llena de un cultivo completamente interrumpido, y se utiliza como muestra en blanco o virgen para el control automático de ganancia. Otra cubeta, que no contiene el disco de antibiótico 14, se uti

liza como control para poder comparar con él y medir las
tasas o velocidades de desarrollo de los organismos en
las cubetas que contienen los antibióticos. Otra fun-
ción de esta última cubeta es la de verificar el desarro-
5 llo del organismo en condiciones normales de desarrollo.
Si el cultivo de control no se desarrolla hasta lograr
un máximo de turbidez, el control de programa recibirá
una señal indicativa de esta condición. Un circuito 69
de muestreo y retención recibe la señal representativa
10 de la luz que pasa a través de la cubeta número 1, señal
que es evaluada contra un valor de referencia contenido
en el detector de error 90 del control automático de ga-
nancia (AGC). El intervalo de observación es, aproxima-
damente, de 1 segundo por cubeta en este ejemplo. Duran-
15 te este período, se mide la amplitud de la señal, y el
control automático de ganancia (AGC) 72 y el detector de
error 90 del AGC compara la señal procedente de la cubeta
número 1 con la tensión de referencia, y el control auto-
mático de ganancia 72 ajusta la ganancia del amplifica-
20 dor de fotodetección 66 de manera que el valor de la cu-
beta número 1 sea igual a este valor de referencia. Como
la cubeta número 1 contiene un cultivo interrumpido, se
transmite a su través la máxima cantidad de luz. Antes
del final del período o intervalo de lectura para la cu-
25 beta número 1, el control de programa 34 envía señal al

circuito 69 de muestreo y retención para las cubetas 2 y retiene el valor derivado de aquella. La ganancia del amplificador 66 permanecerá a este valor de ajuste durante el resto de la secuencia de muestreo, dentro de esta disposición de módulo de detección y cubetas. Al pasar en la secuencia a la cápsula de cubetas inmediata sucesiva, introducida en el módulo de detección, se reajustará la ganancia de manera adecuada, como se ha estudiado más arriba. En el sistema amplificador de señales está incluido un módulo 80 de corrección de la línea de base. Entre el módulo 80 de corrección de la línea de base y el amplificador 66 va colocado un filtro activo 81. Inmediatamente antes de la lectura de la primera cubeta, todas las fuentes de luz están apagadas o desactivadas y este circuito de corrección examina o muestrea el valor de oscuro de la línea de base, y retiene este valor para restarlo de la cubeta número 1. Por consiguiente, la lectura que sigue a esta resta o sustracción representa tan sólo la señal inducida por la luz. Este circuito es operativo en todas las lecturas individuales, por la acción de todos los elementos detectores. La activación de cada fuente de luz viene precedida de un breve período de oscuro, durante el cual se obtiene el valor de corrección y, por consiguiente, se contrarrestan de manera eficaz todos los efectos de deriva y luz de am

biente. El módulo de corrección 80 de la línea de base constituye una característica crítica de funcionamiento del aparato de la presente invención, y se describe con detalle en relación con la fig. 11.

5 Las señales que provienen del filtro activo 81, el cual tiene por objeto reducir el ruido o perturbación, contienen datos útiles más una desviación de la línea de base, debida a las derivas térmicas, luz de ambiente, desviaciones de amplificador y corrientes de
10 oscuro de detectores. Es objeto del sistema de corrección de la línea de base medir la desviación antes de cada lectura, y conservarla en una unidad de almacenaje durante el intervalo de lectura, restándola de la señal total que contiene tanto la señal como la desviación.

15 La señal que llega al módulo 80 de corrección de la línea de base se divide siguiendo dos caminos, la línea 100 y la línea 101. La línea 100 va al amplificador separador 102, cuya salida va, a través de un elemento de conmutación 103, tal como un transistor de
20 efecto de campo de metal y óxido semiconductor (MOSFET), a un condensador de almacenaje 104. Durante el período de luces apagadas, el conmutador o interruptor 103 está cerrado, por la señal de conducción procedente del amplificador 105 y que responde a una orden del control de
25 programa 34. A la señal que sale del amplificador 106

se le resta la señal procedente de la línea 101, de manera que, durante el período de oscuro, la salida del amplificador 107 es esencialmente cero. Justamente antes del final del período de oscuro, el control de programa 34, por medio del amplificador 105, abre el interruptor o conmutador representado por el elemento 103. El condensador 104 retiene ahora el valor de la tensión que tenía aplicada justamente antes de la apertura del interruptor 103, por no tener caminos de fuga sustancial a masa. Al llegar la luz para la cubeta particular, el valor de la tensión en la salida del amplificador separador 106, leído o tomado del condensador 104, como entrada, permanece constante y representa esencialmente el valor de desviación de los datos. La línea 101 contiene ahora la señal más la desviación. Como la salida del amplificador 106 contiene la desviación, y se resta de los datos contenidos en la línea 101 por medio del amplificador diferencial 107, la salida del amplificador 107 contiene solamente los datos significativos, ya que la desviación se ha anulado en esencia.

Las señales procedentes del módulo de corrección 80 de la línea de base prosiguen luego, sea por el amplificador logarítmico 112, sea por el amplificador 113 de reducción a escala, según el módulo de detección esté preparado para la turbidimetría o la nefelome-

tría. Un conmutador 115 de dos posiciones pone al circuito en una u otra operación. Estas operaciones, u otras que incluyan absorción se hallan comprendidas en el ámbito del presente invento.

5 La señal correspondiente a la concentración de células se convierte de tensión analógica en número dígito, en el convertidor analógico/numérico 114. La señal pasa luego al sistema de cálculo numérico que se describe más adelante con mayor detalle. El cálculo

10 básico consiste en leer la turbidez de una cubeta de control y de una cubeta que contiene disco de antibiótico 14. Se lee la turbidez de cada una de ellas, en dos intervalos de tiempo sucesivos. Las concentraciones de control sucesivas pueden estar representadas por los símbolos C, C_{c1}, C_{c2}, etc. Las concentraciones de muestra sucesivas pueden estar representadas por los símbolos C_{s1}, C_{s2}, etc. La razón o tasa de desarrollo al cabo de dos lecturas sucesivas viene definida por el cociente

15 $(C_{s2} - C_{s1}) / (C_{c2} - C_{c1})$.

20 La sección de cálculo recibe esta razón y asigna, por ejemplo, los diferentes valores al resultado. Así, el resultado final será siempre uno de entre diez valores, a saber: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; y 1,0. Cuanto más bajo sea el número, mayor

25 es el efecto que el antibiótico tiene sobre el organismo,

en un ensayo dado. Una razón o cociente de 1,0 representaría una cepa de organismo completamente resistente.

5 La sección de cálculo comprende la memoria 116, el módulo 117 de identificación de entrada a la memoria y registro de datos, el módulo 118 de identificación de salida de la memoria y transferencia de datos, y el sistema de cálculo 119. Las tres primeras unidades de esta sección desempeñan la función de retener la lectura anterior, para restarla de la lectura en curso. Efectuado el cálculo, se almacena la lectura en curso, así como la razón o tasa de desarrollo que acaba de calcularse, en tanto que se borra la lectura precedente.

10

15 La variación de las razones o relaciones de tasa de desarrollo procedentes de un cálculo terminado para el módulo de detección 21 establece los criterios para salida de datos escritos o impresos por medio del control 121 de aparato impresor, al recibirse una señal del control de programa 34. En cuanto la razón o tasa de desarrollo varíe en 0,1, los resultados saldrán impresos por el aparato impresor 124. Es posible introducir criterios auxiliares para dar por terminado el ensayo al alcanzarse una variación de razón específica o una variación de razón para una determinada cubeta, en

20

25 comparación con las demás. El formato de salida impresa

puede ser simplemente una lista de las razones o cocientes, en serie, o bien puede incluir números de identificación de paciente y/o de muestra. Otros formatos más complejos pueden incluir la identificación del ensayo y, quizá, incluso la identificación de antibiótico. La introducción manual de datos adicionales en el programa puede hacerse mediante un dispositivo 195 de introducción discrecional de datos, eléctricamente conectado al control 121 del aparato impresor.

10 La presentación de datos no se limita a lo que antecede, sino que incluirá dispositivos de salida tales como registradores analógicos, máquinas de tele tipo, máquinas de escribir, registradores de facsímil, presentaciones en tubo de rayos catódicos, ordenadores y otros dispositivos de cálculo.

15 El control de programa 34 contiene todas las funciones de establecimiento de secuencia conexas en equipo físico, utilizadas en las fuentes de multiplicación de luz en respuesta a las señales del ordenador, el control de muestreo y retención, la regulación de tiempos (función de reloj) básica del sistema, la vigilancia de mal funcionamiento y los enlaces numéricos. La programación de la secuencia de ensayo no se limita a lo que antecede, sino que será función de las aplicaciones específicas del aparato del presente invento.

20

25

La sección electroóptica de la invención consta de multitud de juegos de fuentes de luz, lentes y detectores. Dispuestos en cajeta, todos los fotodetectores van conectados en paralelo y, sin alterar la función del presente invento, pueden ser un solo fotodetector largo y delgado, o bien una serie de elementos fotodetectores depositados en un substrato como más arriba se indica. La singularidad de esta parte de la invención está en que los elementos fotodetectores se hallan conectados todos en paralelo, y las salidas de estos elementos van todas a un canal común electrónico de preamplificación. El aparato de la presente invención se refiere a una multitud de detectores, en número mayor que dos, y quizá hasta de doscientos, en paralelo. La invención no excluye el caso de varios amplificadores electrónicos de preamplificación cuyas salidas vayan sumadas o añadidas a un canal común. Pudiera ser que, para más de diez o veinte cubetas, se requiriesen preamplificadores independientes o por separado. En este caso, sólo influyen en el resultado factores de costo en relación con el funcionamiento. La fuente de luz aquí descrita consiste en diodos emisores de luz (LED) de estado sólido, de fosfuro y arseniuro de galio, como los fabricados por Fairchild, Monsanto y otros, pero esto no constituye limitación al tipo de fuente de luz. La fuente de luz

puede o no contener la lente de colimación. Cuando se necesitan longitudes de onda distintas, se puede recurrir al uso de lámparas de filamento del tipo de tungsteno, lámparas de presentación del tipo de plasma o cualquiera de los tipos de fuente de luz que pueda ser utilizado económicamente en cantidad. Con las lámparas de tungsteno se utilizan filtros de determinadas longitudes de onda, para permitir selectivamente el paso de luz en estrechas bandas a través de la solución.

En el ámbito de la presente invención está comprendido también el empleo de la luz polarizada, como fuente, y en este caso se detecta solamente la luz no polarizada, en la premisa de que la luz difundida o diseminada por las partículas en suspensión sale no polarizada. Los cuantos de luz no polarizada son proporcionales al número de partículas de diseminación en el trayecto del haz transmitido.

Las fuentes de luz, en la presente invención, se multiplan en su activación y desactivación a un régimen tal que la luz procedente de una de las fuentes ha desaparecido por completo antes de que se active o encienda la luz siguiente. De hecho existe un período de oscuro entre destellos de luz, en el cual el módulo de corrección de la línea de base muestrea o examina la cubeta en oscuro.

El canal electrónico de preamplificación contendrá unos elementos de filtro adecuados para dejar pasar la información relativa a la concentración de células y rechazar el ruido o perturbación, efecto de deriva y similares, no relacionados con ella. El filtro activo 81 desempeña esta función del modo estudiado más arriba.

El control de programa 34 es un control de secuencia que gobierna virtualmente todas las funciones secuenciales del aparato de esta invención, y que vigila todos los fallos o defectos de funcionamiento y actúa de modo acorde. Su función puede derivarse de un conjunto de componentes lógicos numéricos desunidos (discretos), o bien puede derivarse de una memoria de exclusiva lectura (ROM) como la fabricada por Radiation Inc., Fairchild y otros.

Los fotodetectores 45 y 58 pueden ser de la variedad fotoconductiva o fotovoltaica, o fotodiodos de silicio, como los fabricados por Allen Bradley, Vactec y Solid State Radiation Inc., respectivamente.

Los amplificadores de detección 46 y 66 pueden ser del tipo integrado, de gran impedancia de entrada. El amplificador 74 puede ser de un tipo híbrido, de bajo nivel de ruidos, como el fabricado por Philbrick Teledyne, Analog Devices y otros. El amplificador 83 de

reducción a escala puede ser de un tipo ya conocido en la industria como, por ejemplo, el fabricado por Fairchild, Motorola o Texas Instruments.

5 La conversión de los datos analógicos en números escritos o impresos se consigue mediante una combinación de módulos lógicos numéricos obtenibles en el mercado, ensamblados para efectuar la función ilustrada en la fig. 10, entre las salidas del amplificador logarítmico 112 o del amplificador 113 de reducción a escala
10 y el aparato impresor 124, el cual puede ser un impresor de líneas tal como el fabricado por Seiko, Monroe, Victor y otros. Esta ilustración del presente invento no excluye el empleo de un solo circuito integrado en gran escala, hecho a medida para desempeñar las funciones de la circuitería numérica de la fig. 10. Los módulos lógicos numéricos para efectuar estas tareas o funciones
15 incluyen la lógica de transistor-transistor (TTL) fabricada, por ejemplo, por Signetics, Fairchild, Texas Instruments y Motorola.

20 El convertidor analógico/numérico 114 puede ser un convertidor binario codificado en decimal (BCD) de doce bits, como el fabricado por Philbrick o Burr-Brown Inc.

25 La unidad de memoria 116 de los medios de cálculo electrónicos puede constar de una memoria múlti-

ple de semiconductores como la fabricada por Intel, Fairchild, Micro-Systems, American Micro-Systems Inc. y otros.

5 Con referencia ahora a la fig. 9, se re-
presentan en ella una pluralidad de cápsulas 3 intro-
ducidas en una pluralidad de módulos de detección 21,
montados en una cubierta ambiental de control 198 de un
pupitre 200. A la totalidad de los módulos de detección
21 se aplica simultáneamente un suave movimiento orbital,
10 con el auxilio de unos medios de agitación 98 montados
en el interior del pupitre 200, según se indica en la
fig. 10. Los medios de agitación 98 pueden ser un dis-
positivo electromecánico cualquiera ya conocido, tal co-
mo una leva de desviación movida por motor eléctrico con-
15 trolada eléctricamente por el control de programa 34.
Los componentes de salida de control ilustrados en la
fig. 10 van montados en la envolvente o caja de aloja-
miento 201 contigua. Los resultados de los componentes
de salida pueden tomarse por lectura de la salida impre-
20 sa 202.

 Con referencia ahora a la fig. 12, se re-
presenta la cápsula 3 montada en un módulo de detección
21, el cual a su vez se representa montado en un disipa-
dor de calor 300. El módulo de detección 21 se repre-
25 senta en íntimo contacto térmico con el disipador de ca-

lor 300. En el disipador de calor 300 van montados unos calefactores 301 de semiconductor, que proporcionan la posibilidad o capacidad de dar calefacción. Para facilitar el enfriamiento del disipador de calor 300 hay unos
5 medios de aire forzado como, por ejemplo, el ventilador 302, para dirigir el aire ambiente a gran velocidad sobre la superficie del disipador de calor 300. En la superficie superior del módulo detector 21 va montado un
10 perceptor de temperatura 303, por ejemplo, del tipo de semiconductor, de alto coeficiente. La salida del detector de temperatura 303 va conexasionada al circuito electrónico 304 de control de temperatura de la fig. 10. La salida del perceptor 303 se amplifica y compara con una referencia electrónica. La diferencia se amplifica, y
15 con ella se excita el calefactor de semiconductor a un nivel de calentamiento que establezca la temperatura adecuada en el disipador de calor 300. El modo de control aquí ilustrado resulta extremadamente preciso, pues abarca tanto un efecto de calefacción como un efecto de refrigeración. Este control de temperatura es capaz de regular dentro de límites muy estrechos, de una precisión
20 hasta de 0,1°C. La mayoría de los demás tipos de controles de incubadora padecen de la incapacidad de recuperarse rápidamente de una oscilación de temperatura, pues su enfriamiento depende de la transferencia de calor por
25

convección y conducción, en tanto que en la presente in
vención se utiliza un sistema de refrigeración por aire
forzado para obtener una simetría de respuesta. La ele-
vada masa térmica del disipador de calor 300 reduce al
5 mínimo la variación de temperatura en la cápsula 3 cuando
se levanta la cubierta ambiental.

La descripción de este invento que ante-
cede no se considera limitativa, ya que es posible para
las personas versadas en la materia efectuar variaciones
10 sin apartarse del espíritu ni salirse del ámbito de las
reivindicaciones que siguen.

La presente solicitud que corresponde a
la presentada en Estados Unidos de América, con fecha 20
de Septiembre de 1.972, bajo el número 290.654 y con fe-
15 cha 27 de Agosto de 1.973, bajo el número 392.107, se aco
ge a los beneficios del Artículo 51 del vigente Estatuto
sobre Propiedad Industrial.

20



REIVINDICACIONES

Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

1.^a.- Una cápsula autónoma de construcción unitaria para un aparato analizador de fluidos biológicos, que comprende una pluralidad de cubetas, una cámara montada en posición adyacente por encima de dichas cubetas y medios dispuestos entre dicha cámara y dichas cubetas para permitir el paso de fluido desde dicha cámara directamente a cada una de dichas cubetas.

2.^a.- Una cápsula según la reivindicación 1.^a, en la que dichos medios comprenden una pluralidad de válvulas unidireccionales, cada una de las cuales está montada entre el suelo de dicha cámara y cada una de dichas cubetas.

3.^a.- Una cápsula según la reivindicación 1.^a,



en la que dichos medios para permitir el flujo de fluido desde dicha cámara a dichas cubetas son una membrana permeable a los líquidos.

5 4ª.- Una cápsula según la reivindicación 1ª, que incluye además una abertura destinada a comunicar con una fuente de vacío para imponer una diferencia de presión entre dicha cámara y dichas cubetas.

10 5ª.- Una cápsula según la reivindicación 2ª, que incluye además una abertura destinada a comunicar con una fuente de vacío para imponer una diferencia de presión entre dicha cámara y dichas cubetas.

15 6ª.- Una cápsula según la reivindicación 3ª, que incluye además una abertura destinada a comunicar con una fuente de vacío para imponer una diferencia de presión entre dicha cámara y dichas cubetas.

20 7ª.- Una cápsula según la reivindicación 1ª, en la que dicha cámara superior está dividida en dos cámaras sustancialmente coextensivas, una primera cámara para fluidos y una segunda cámara sin fluido, habiendo medios dispuestos entre dicha primera cámara y dichas cubetas para permitir el flujo de fluido desde dicha cámara a dichas cubetas y habiendo unos medios permeables a los gases dispuestos entre dicha segunda cámara y dichas cubetas para permitir que los gases presentes en dichas cubetas escapen de ellas entrando en

25



dicha segunda cámara cuando el fluido pasa de dicha primera cámara a dichas cubetas.

5 8a.- Una cápsula según la reivindicación 7a, que incluye además una abertura en dicha segunda cámara destinada a comunicar con una fuente de vacío para imponer una diferencia de presión entre dicha primera cámara y dichas cubetas.

10 9a.- Una cápsula según la reivindicación 7a, en la que dichos medios dispuestos en dicha primera cámara son unos medios de válvula.

10a.- Una cápsula según la reivindicación 8a, en la que dichos medios dispuestos en dicha primera cámara son unos medios de válvula.

15 11a.- Una cápsula según la reivindicación 7a, en la que dichos medios para el flujo de fluido desde dicha primera cámara a dichas cubetas son una membrana permeable a los líquidos.

20 12a.- Una cápsula según la reivindicación 8a, en la que dichos medios para el flujo de fluido desde dicha primera cámara a dichas cubetas son una membrana permeable a los líquidos.

13a.- Una cápsula según la reivindicación 9a, en la que dichos medios de válvula son una membrana permeable a los líquidos.

25 14a.- Una cápsula según la reivindicación 10a,



en la que dichos medios de válvula son una membrana permeable a los líquidos.

5 15ª.- Una cápsula autónoma de construcción unitaria para un aparato analizador de fluidos biológicos.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

10 Esta Memoria consta de treinta y cinco hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

27. ABR. 1976

P.A.

Oscar de Eizaburu
Por Poder,

157780

22

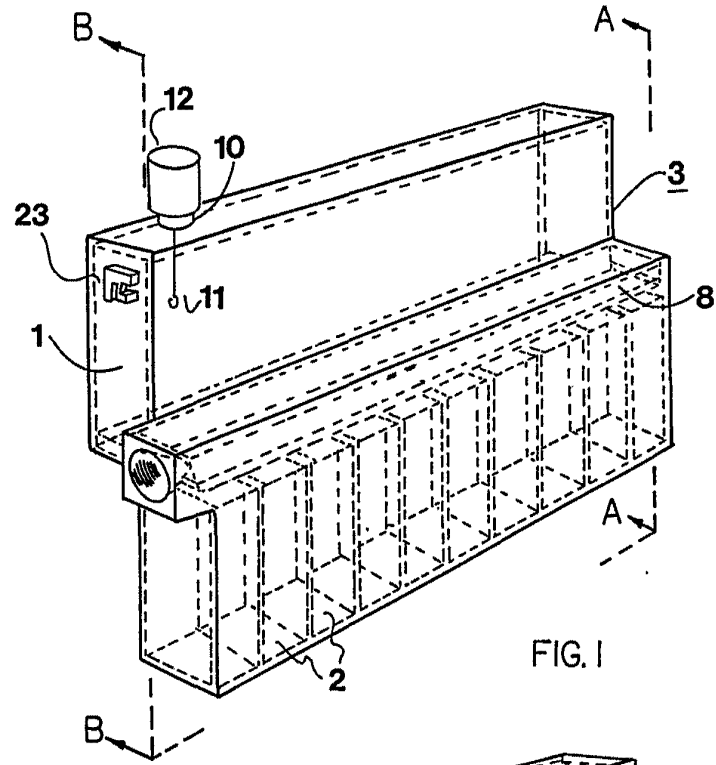


FIG. 1

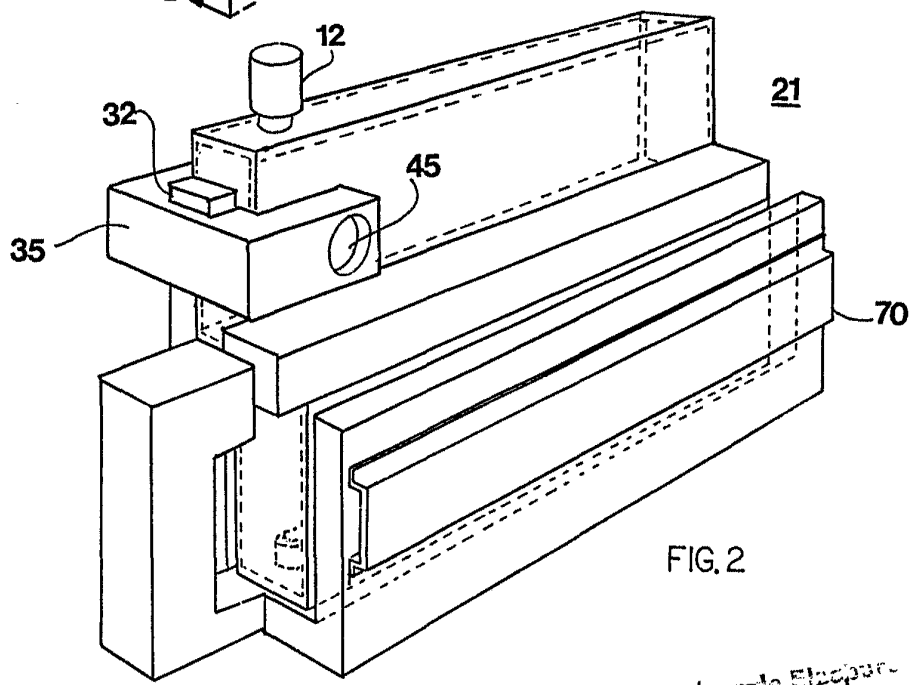


FIG. 2

Osborn & Elmhurst
For [unclear]
[Signature]

10-2880

22 MAR 1970

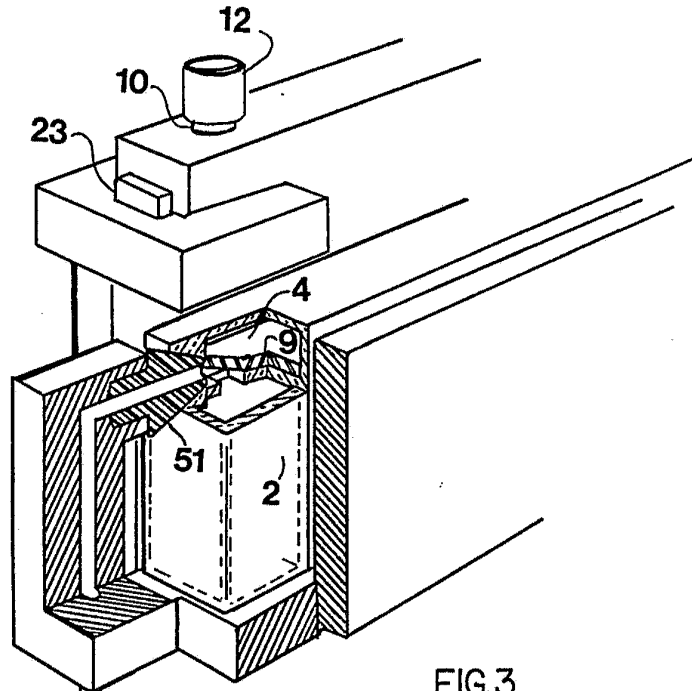


FIG. 3

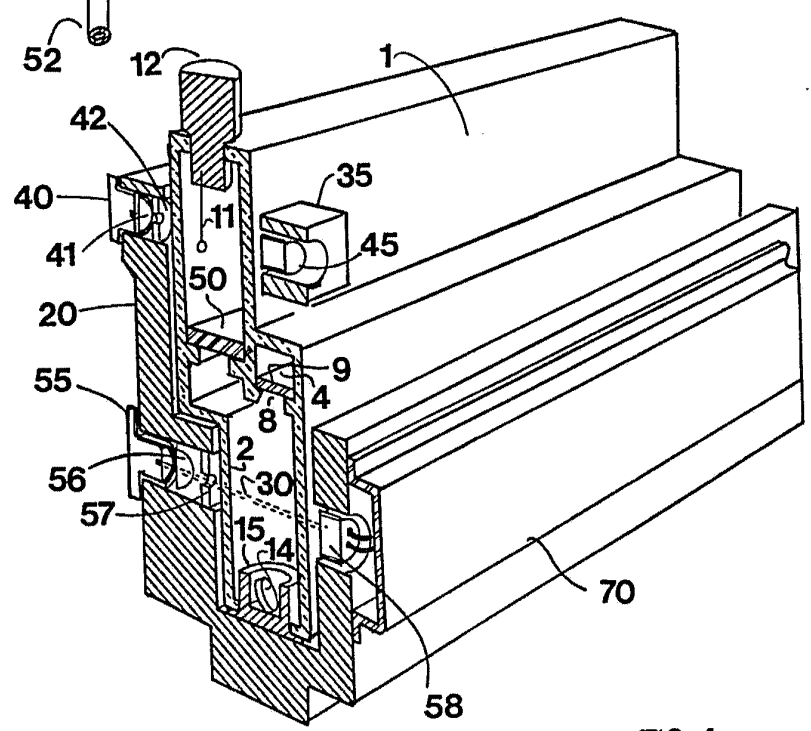


FIG. 4

AKTO-MEDIC ENGINEERING INC.
[Signature]

Ro-280



22

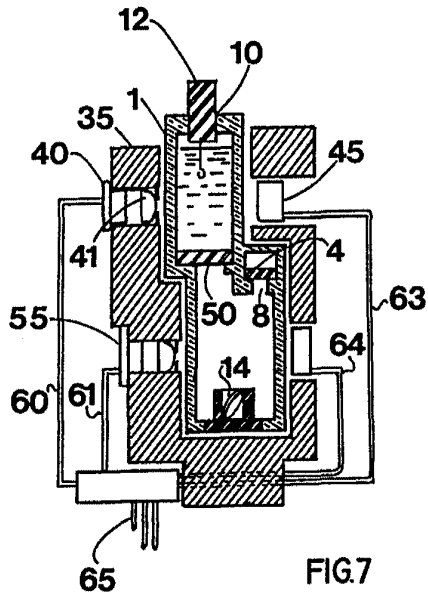


FIG. 7

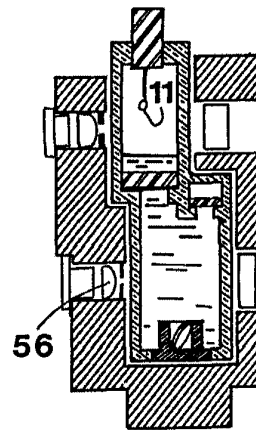


FIG. 8

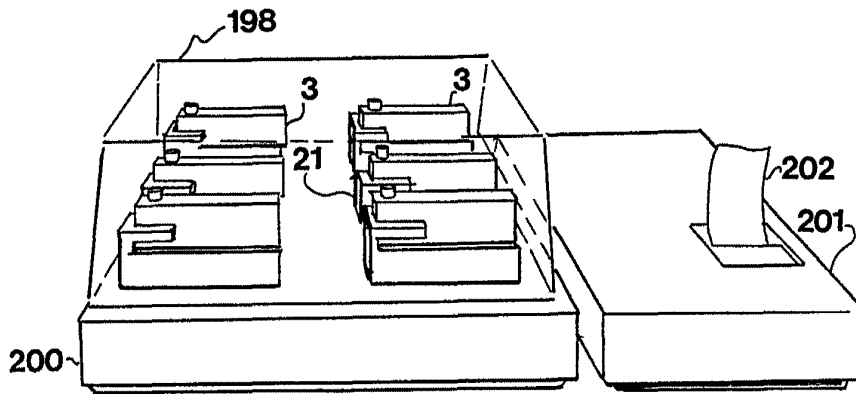


FIG. 9

AKRO-MEDIC ENGINEERING
AKRO

10-250

22 MAR 1964

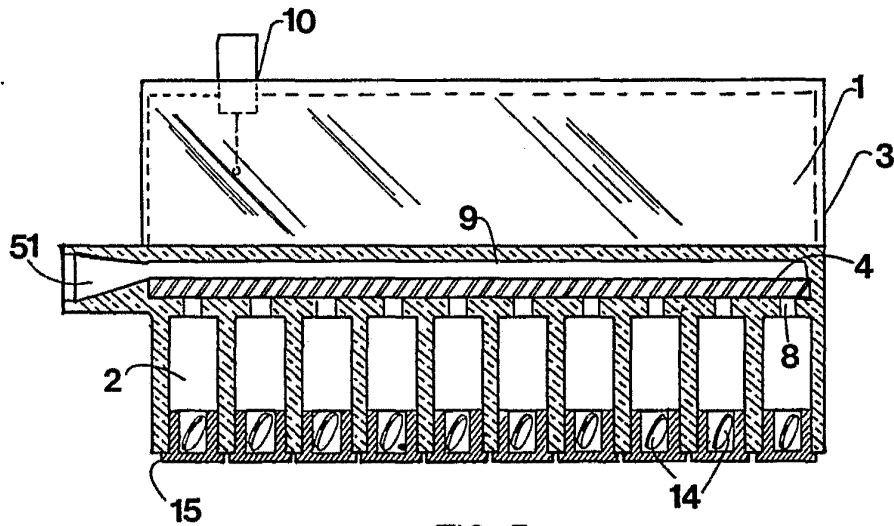


FIG 5

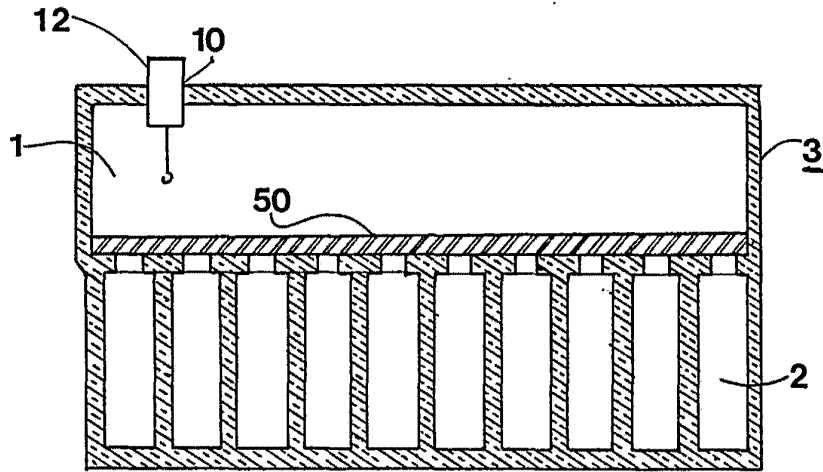


FIG. 6

Oscar de Biazburu
Pat. Insp.

P. 4780



22 MAY 1975

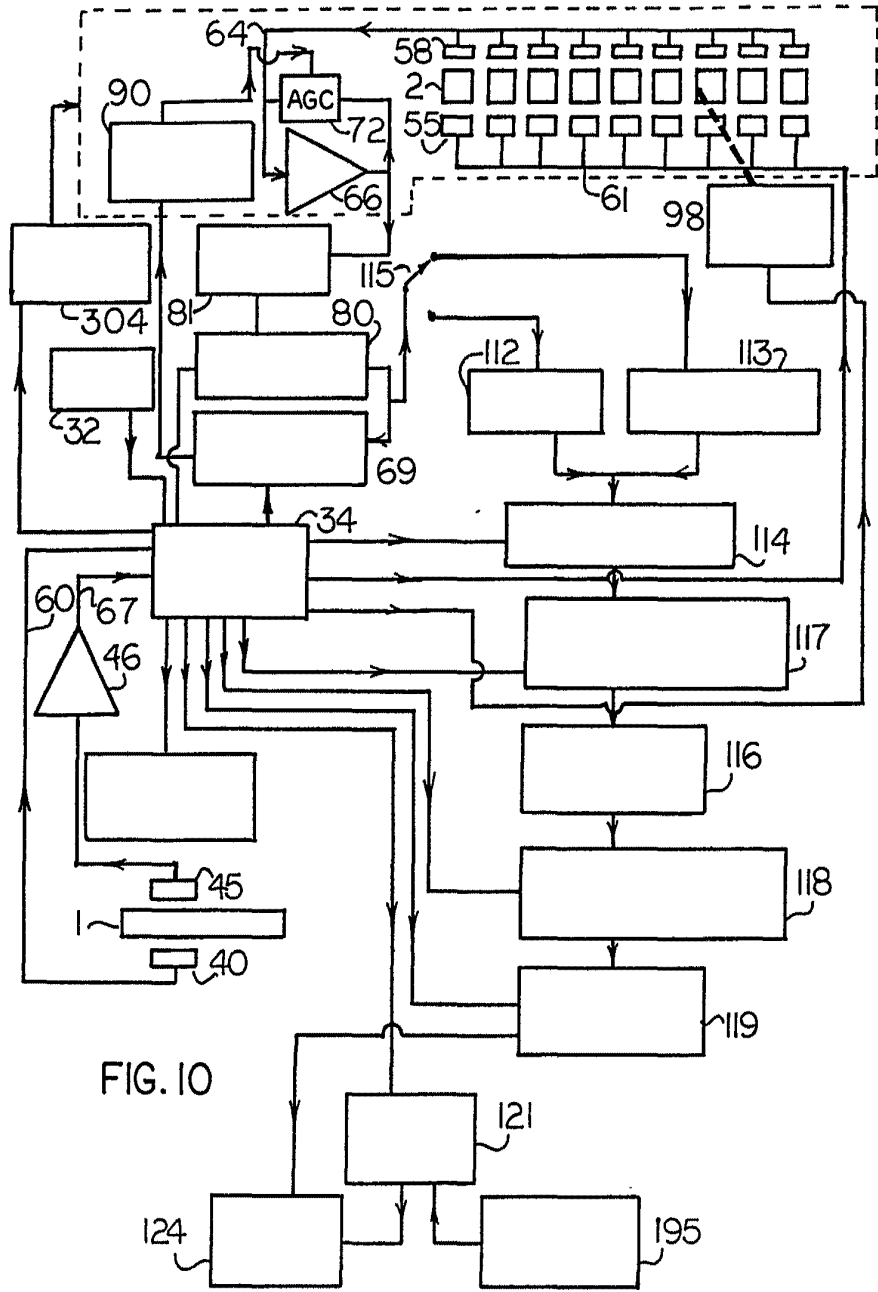


FIG. 10

Copyright © 1975
Fed. *[Signature]*

P-7780

22

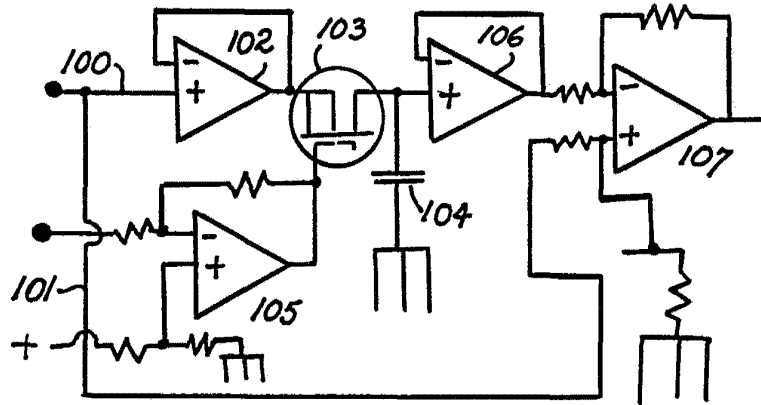


FIG. 11

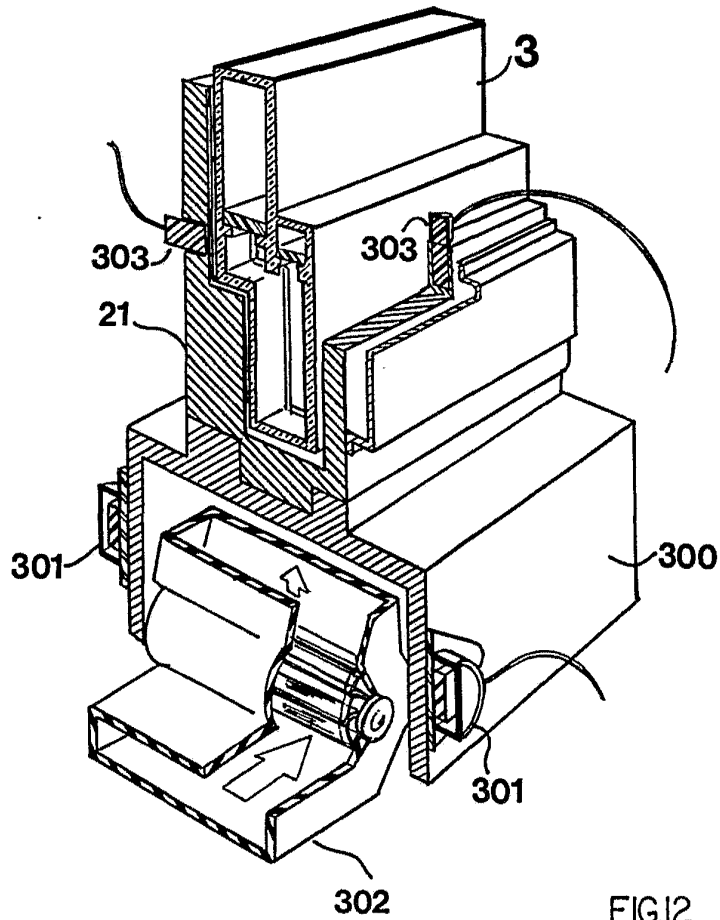


FIG. 12

Copyright © 1977
AKRO-MEDIC ENGINEERING INC.