

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

10	ES	11	NÚMERO	460989	10	A1
		21				
		22	FECHA DE PRESENTACION	22. JUL. 1977		

PATENTE DE INVENCION

A1 460989 780501 G01N 33/46

50	PRIORIDADES:	52	FECHA	53	PAIS
51	NÚMERO				
	673.058		2.4.76		EE.UU.

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			G01N		457.430

54	TITULO DE LA INVENCION
	"UN METODO PERFECCIONADO PARA DETERMINAR EL VOLUMEN APROXIMADO DE LA CAPA LINFATICA EN UNA MUESTRA DE SANGRE PLENA SOMETIDA A ANTICOAGULACION"

71	SOLICITANTE (S)
	1) STEPHEN CLARK WARDLAW, 2) ROBERT AARON LEVINE y 3) JAMES VINCENT MASSEY, III (CASE:H.1002)

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
New Haven, Connecticut, Estados Unidos de América

72	INVENTOR (ES)
	los mismos solicitantes

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE
	D. OSCAR DE ELZABURU FERNANDEZ (P.- 66.335)

1

Este invento se refiere a una técnica para hacer posible una rápida medición visual del volumen aproximado de una capa de material constituyente en una mezcla de material centrifugado. Más particularmente, este invento emplea un cuerpo dispuesto en un tubo de centrifuga dentro de los confines generales de la capa que ha de ser medido y que actúa para prolongar o alargar la extensión axial del volumen ocupado por la capa que ha de ser medida.

5

10

Se han propuesto diversas técnicas para utilizarse en la medición del volumen de una capa constituyente de material dentro de una mezcla de materiales, la cual mezcla de materiales ha sido centrifugada para separar entre sí los diversos materiales constituyentes en capas, de acuerdo con la densidad o el peso específico. Estas técnicas han encontrado aplicación particular para medir los diversos constituyentes de diversos flúidos biológicos, tales como sangre, por ejemplo.

15

20

El constituyente particular de la sangre que ha probado ser más difícil de medir con rapidez y facilidad es la capa linfática que está constituida por diversos tipos de leucocitos o células blancas y plaquetas. En una muestra de sangre plena sometida a anticoagulación y centrifugada, la capa linfática está colocada entre la capa de eritrocitos o células rojas y la capa de plasma, pero debido a la relativa opacidad de la capa linfática, hasta ahora se ha carecido de una técnica visual rápida para medir la capa linfática.

25

30

Una técnica para determinar el recuento de leucocitos implica la utilización de un volumen medido con exactitud de sangre plena, que es diluido con exactitud y coloca

14077

1 do en una cámara de recuento óptico de un volumen estable
cido. Luego, la muestra de sangre diluída es examinada con
un microscopio y los leucocitos, o células sanguíneas blan
cas, son recontados visualmente. Esta técnica es larga, re
5 quiere un equipo relativamente costoso, y está sujeto a
errores que proceden de una medición inexacta de la mues
tra y de una dilución imprecisa de dicha muestra.

Otra técnica ha sido desarrollada para la medición
automática del recuento de leucocitos de una muestra de
sangre. La muestra de sangre plena es diluída manual o
10 automáticamente, y los leucocitos son recontados o bien
detectando y midiendo la dispersión de luz desde ellas en
la muestra cuando pasan a través del espacio confinado, o
bien midiendo su efecto sobre un campo eléctrico cuando
pasan a través de una pequeña abertura. Estas técnicas au
15 tomáticas son bastante exactas, pero el equipo neces
ario para ellas es bastante caro. El equipo requiere tam
bién utilizar técnicos especialmente entrenados.

En el campo más general de la medición volumétri
ca de capas de materiales constituyentes en una mezcla de
20 materiales centrifugada, se ha propuesto ampliar física
mente la extensión axial de la capa de interés con el fin
de desarrollar alguna operación adicional con la capa en
cuestión. Específicamente, se propone en la técnica ante
rior disponer un frasco especialmente conformado para uti
25 lizarse en la determinación del recuento de leucocitos en
una muestra de sangre plena. El frasco es un recipiente de
centrífuga e incluye una zona axial central de diámetro
interior estrechado que, a causa de su volumen reducido,
formará una estrecha columna vertical de leucocitos. Un

1 material de alta densidad, tal como mercurio, debe ser
utilizado en este frasco para elevar la muestra de sangre
con el fin de asegurar que los leucocitos ocupen el estre-
cho cuello axial central del recipiente. Una vez que han
5 sido colocados apropiadamente, los leucocitos son retira-
dos por aspiración desde el recipiente y sometidos a ensa-
yo adicional. Se apreciará que dicho frasco es difícil de
conformar con exactitud, es bastante frágil, y no puede
ser utilizado con facilidad como un tubo capilar debido
10 a la necesidad de tener cerrado un extremo para facilitar
la introducción del mercurio en él. Este frasco es utili-
zado por lo tanto para muestras de sangre relativamente
grandes y solamente para la recogida de leucocitos desde
ellas.

15 Otra propuesta para acrecentar la separación cen-
trífuga es expuesta en la técnica anterior. Esta última
técnica implica la utilización de microesferas producidas
artificialmente, apretadamente empaquetadas, que son dis-
puestas dentro de un tubo de centrífuga para restringir el
volumen libre disponible para ser ocupado dentro del tubo
20 por el material fluido centrifugado. Las microesferas son
formadas con un núcleo de material plástico que tiene un
revestimiento metálico para controlar con exactitud la
densidad global de las esferas. A su vez, las densidades
de las esferas se seleccionan de manera que una pluralidad
25 de esferas flotarán en cada capa de los materiales centri-
fugados. De este modo, cada capa de material tendrá su
densidad particular igual a la densidad de una pluralidad
asociada de esferas, las cuales esferas, por razón del
gradiente de densidades de la mezcla centrifugada, serán

1 restringidas a la capa de material particular con la misma densidad y "flotarán" en ella. De esta manera, la extensión axial de cada capa será expandida para una medición visual más fácil. Las esferas de diferentes densidades pueden ser también de diferentes colores para contrastar aún más las diversas capas unas con respecto a las otras. Esta técnica tiene diversos problemas, uno de los cuales se refiere a la centrifugación en general, es decir al problema de cómo introducir las esferas dentro del tubo, especialmente si el tubo es de tamaño capilar, y el otro de los cuales se refiere a la utilización en una técnica de medición de capa linfática. Este último problema aparece de las características de empaquetamiento de las esferas en que el espacio libre resultante, disponible para ser ocupado por la capa linfática es aproximadamente 35% del espacio libre original presente sin las esferas. Esto significa que la extensión axial de la capa linfática en una muestra de sangre centrifugada puede ser aumentada sólo aproximadamente en tres veces utilizando únicamente microesferas, y que este grado de aumento es insuficiente para permitir una medición visual simple del volumen de la capa linfática con cualquier grado de exactitud aceptable.

25 Con el fin de crear una técnica visual barata y rápida, para determinar la medición general de capa linfática o recuento de leucocitos en una muestra de sangre sometida a anticoagulación, se propone por los inventores presentes la utilización de al menos una masa que ocupa volumen, axialmente alargada que está constituida por un material que tiene una densidad específica tal que la ma-

1 sa flotará sobre, o ligeramente dentro, de la capa de eritrocitos de la muestra de sangre centrifugada. La masa es dispuesta en el taladro de tubo capilar, tiene su eje de alargamiento sustancialmente coincidente con el eje de taladro del tubo y se combina con el taladro del tubo para formar un espacio libre, que se extiende axialmente, entre la pared de taladro de tubo y el exterior de la masa. El volumen del espacio libre es sustancialmente menor que el volumen libre del taladro del tubo, de manera que la extensión axial de la capa linfática será aumentada marcadamente cuando la capa linfática sea colocada en el espacio libre durante y después de la centrifugación.

5
10 La forma geométrica de la masa puede variar ampliamente, tal como se señalará seguidamente con mayor detalle. La masa puede ser utilizada también en combinación con un racimo de microesferas para acrecentamiento adicional. Además, la masa puede ser utilizada para identificación visual de los diversos constituyentes internos de la capa linfática, tal como se señalará seguidamente.

15
20 Por lo tanto, un objeto de este invento es crear una técnica para utilizarse en la determinación visual del recuento general de leucocitos y plaquetas que constituyen la placa linfática en una muestra de sangre plena.

25 Otro objeto adicional de este invento es crear una técnica del carácter descrito que implique la utilización de un tubo de centrífuga de tipo capilar, que contiene una masa que ocupa volumen alargado axialmente, colocada selectivamente en la capa linfática y que flota sobre la capa de eritrocitos de la muestra de sangre.

Otro objeto de este invento es crear una técnica

1 del carácter descrito que utilice utensilios desechables y consumibles y pueda ser desarrollado con rapidez en una consulta de médico por personal relativamente no adiestrado.

5 Otro objeto más de este invento es crear una técnica del carácter descrito para realizar un recuento diferencial de leucocitos y plaquetas.

10 Un objeto adicional de este invento es crear una técnica del carácter descrito, que sea relativamente exacta y barata de utilización.

15 Este y otros objetos y ventajas del invento resultarán evidentes con mayor facilidad a partir de la siguiente descripción detallada de varias formas de realización del invento, tomadas en unión con los dibujos anejos, en los cuales:

La figura 1 es una vista en perspectiva despiezada de una forma de realización de un aparato utilizable para determinar el recuento de leucocitos o células blancas y de plaquetas, de acuerdo con el invento;

20 La figura 2 es una vista en sección axial de un tubo capilar empleado de acuerdo con las enseñanzas de la técnica anterior para la centrifugación de una muestra de sangre plena en sus componentes constituyentes, es decir eritrocitos, leucocitos, plaquetas y plasma;

25 La figura 3 es una vista en sección axial del aparato de la figura 1 que es empleado para efectuar una medición visual del recuento de leucocitos y plaquetas en una muestra de sangre plena centrifugada;

30 Las figuras 4-6 son vistas en perspectiva de diversas variantes de la porción de inserción del aparato

1 de la figura 1;

La figura 7 es una vista en sección axial de la porción de inserción modificada de la figura 5, tomada a lo largo de la línea 7-7 de la misma;

5 La figura 8 es una vista en sección axial de la porción de inserción modificada de la figura 6;

10 La figura 9 es una vista en sección axial de un tubo de muestras que enseña una forma de realización del invento que incluye microesferas demarcadoras de interfase o un material en partículas de densidades específicas apropiadas, utilizadas en unión con un cuerpo que ocupa volumen alargado axialmente, del tipo mostrado en la figura 1; y

15 Las figuras 10 y 11 son vistas en perspectiva de otras formas de realización de una porción de inserción que puede ser utilizada en calidad de la masa que ocupa volumen, en este invento.

20 Haciendo referencia ahora a los dibujos, se enseña en la figura 1 una forma de realización de un aparato que puede ser utilizado de acuerdo con el invento para efectuar una determinación visual del recuento aproximado de leucocitos y plaquetas en una muestra de sangre plena. El aparato incluye un tubo capilar 2 de estructura convencional, que tiene un taladro pasante 4 que está abierto
25 junto a ambos extremos del tubo 2. Una masa 6 que ocupa volumen, alargada axialmente, está colocada dentro del taladro de tubo 4. En la forma de realización mostrada en la figura 1, la masa 6 adopta la forma de una porción de inserción o taco, cilíndrica y recta, que está compuesta de un material que tiene una densidad específica previamente
30

1
5
10
determinada que hace a la masa flotante sobre la masa de eritrocitos centrifugada. Debido a su forma, la porción de inserción 6 será mantenida en el taladro de tubo 4 de manera que ambos tengan ejes sustancialmente coincidentes en todo momento. El diámetro de la porción de inserción 6 es suficientemente menor que el diámetro del taladro de tubo 4 de manera que sea deslizable dentro del taladro de tubo 4, de modo tal que la porción de inserción 6 pueda gravitar hacia la capa de eritrocitos durante la centrifugación de la muestra de sangre y flotar sobre la capa de eritrocitos después de la centrifugación.

15
20
25
30
La diferencia entre los diámetros respectivos de la porción de inserción 6 y el taladro de tubo 4 formará un espacio libre de volumen restringido, el cual espacio libre es ocupado por la capa centrifugada de leucocitos y plaquetas. Restringiendo el tamaño del espacio libre disponible para la capa linfática, la densidad aparente o espesor de la capa linfática será expandida sobre la obtenida en un taladro de tubo capilar no restringido. Los cambios de volumen de la capa linfática de una muestra a otra serán "aumentados" de este modo por lo que se puede determinar visualmente si el recuento de leucocitos y plaquetas es elevado bajo o medio, hablando de manera general. Esta determinación general será utilizada luego para indicar si se necesitan ensayos adicionales más sofisticados. Se apreciará que el grado de expansión de la altura de la capa linfática puede ser hecho variar haciendo variar la diferencia entre los diámetros de la porción de inserción 6 y el taladro de tubo 4. Se pueden obtener factores de expansión dentro del margen desde cuatro hasta

1 - veinte. Por ejemplo, se obtiene con facilidad un factor
de expansión, o múltiplo, de nueve. Se apreciará que esta
expansión aparente de la capa linfática es el resultado
del hecho de que la porción de inserción 6 ocupa volumen
dentro del tubo adyacentemente a la capa de eritrocitos,
5 y reduce de este modo el volumen libre disponible para la
capa linfática en un múltiplo de 0,75 o más.

La figura 2 ilustra un tubo capilar 4 que contiene
una muestra de sangre que ha sido centrifugada para sepa-
rarse en sus capas componentes constituyentes. Se observa-
rá que el extremo inferior del taladro de tubo ha sido ob-
10 turado por un pegote de arcilla, cera o material similar
3, antes de la centrifugación. La capa de eritrocitos o
células rojas es designada generalmente por la letra R,
la capa de leucocitos y plaquetas, por ejemplo, la capa
15 linfática es designada por la letra B, y la capa de plasma
es designada por la letra P. Se observará que la extensión
axial o espesor de la capa B de leucocitos y plaquetas es
diminuta haciendo por lo tanto imposible determinar de ma-
20 nera visual generalmente si el recuento de leucocitos y
plaquetas es anormalmente alto, bajo o medio.

Haciendo referencia ahora a la figura 3, se mues-
tra el aparato de la figura 1 utilizado para alargar axial-
mente los límites de la capa linfática B. La muestra ha si-
25 do centrifuga en el tubo 2 con la porción de inserción 6
de masa que ocupa volumen, en su sitio dentro del taladro
de tubo 4. Tal como puede observarse de la figura 3 y según
se ha descrito precedentemente, el taladro de tubo 4 y la
superficie lateral de la porción de inserción 6 se combi-
nan para formar un volumen libre anular V directamente por

1 encima de la capa de eritrocitos R dentro del cual volumen
libre anular se sedimenta durante la centrifugación la ca-
pa linfática. Se observará también que el volumen libre
anular V es sustancialmente menor que un correspondiente
5 volumen libre dentro del taladro de tubo, y por lo tanto
la extensión axial de la capa linfática, que ocupa el vo-
lumen libre anular, es expandida sustancialmente. En otras
palabras, la distancia entre los meniscos superior e infe-
rior de la capa linfática es aumentada con respecto a la
10 mostrada en la figura 2. Un múltiplo de expansión mínimo
de aproximadamente cuatro es considerado como útil en la
determinación visual del recuento de leucocitos y plaque-
tas de acuerdo con este invento. Si así se desca, se puede
utilizar una guía de referencia 8 para comparación con el
15 aparato con el fin de determinar un recuento, alto, bajo o
medio, de leucocitos y plaquetas. La guía 8 puede presen-
tar indicadores de referencia 10 para alinearse con menis-
cos superiores e inferiores de la capa linfática. Así, una
medición de la distancia entre los meniscos superior e in-
20 ferior de la capa linfática es efectuada para determinar
los recuentos de leucocitos y plaquetas. Mediciones más
exactas de la expansión axial relativa de la capa linfáti-
ca por utilización de medios mecánicos, ópticos o eléctri-
cos se pueden efectuar también mediante el aparato de la
25 figura 3.

El aparato de las figuras 1 y 3 es utilizado del
siguiente modo. La porción de inserción 6 es colocada den-
tro del taladro de tubo 4 y los extremos del tubo 2 pueden
ser plegados hacia dentro por ejemplo en 1 para retener la
porción de inserción dentro del taladro, o la porción de
30

1 inserción puede ser adherida a la pared del taladro de
tubo mediante un adhesivo soluble en la sangre tal como
goma acacia. El tubo es utilizado luego de una manera con-
vencional para tomar una muestra de sangre de un paciente
5 por medio de un aguijón de dedo o similar. La muestra to-
mada es luego centrifugada con la separación y el alarga-
miento resultantes de la capa linfática tal como se mues-
tra en la figura 3.

10 Se observará que la forma alargada axialmente de
la porción de inserción se presta a la conformación de la
misma por extrusión de una masa fundida resinosa sintéti-
ca y subsiguiente corte del material extruido a las longi-
tudes deseadas. La porción de inserción puede ser consti-
tuida también mediante moldeo por inyección de una masa
15 fundida resinosa. La porción de inserción 6 está hecha de
un material o de materiales que tienen una densidad espe-
cífica o densidad aparente en sección transversal dentro
del margen de $1,02 \text{ g/cm}^3$ a $1,09 \text{ g/cm}^3$, y preferiblemente
de alrededor de $1,04 \text{ g/cm}^3$, de manera que la porción de
20 inserción 6 flotará sobre la capa de eritrocitos y toda-
vía se hundirá a través de la capa linfática. Ejemplos de
tal material son acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS),
estireno "comercial" y copolímero de estireno MMA. Una es-
tratificación de materiales con diferentes densidades pue-
de ser utilizada también para formar la porción de inser-
ción, siempre que la densidad aparente en sección trans-
25 versal de la pieza de inserción estratificada tenga un va-
lor apropiado.

La forma de la porción de inserción 6 mostrada en
las figuras 1 y 3 es la cilíndrica recta, pero las figuras

1 4, 5, 6 y 10 describen otras configuraciones de porciones de inserción que pueden ser utilizadas sin apartarse del espíritu del invento.

5 La figura 4 describe una porción de inserción 12 que está provista con uno o más canales axiales 14 formados en su superficie lateral. Los canales 14 forman pasajes en los cuales se sedimentará durante la centrifugación la capa linfática.

10 La figura 5 describe una porción de inserción 16 que tiene una pared lateral cilíndrica 18. Un canal axial 20, dentro del cual se sedimenta la capa linfática, es formado en la pared lateral. El canal 20 tiene una embocadura restringida 22 junto a su extremo inferior que está adyacente a la capa de eritrocitos, y el volumen del canal 15 20 se expande en un grado logarítmico desde la embocadura 22 hasta su extremo superior 24. La utilización de un grado de expansión logarítmico u otro grado no lineal del canal 20 puede proporcionar unos medios exactos para determinar el recuento de leucocitos y plaquetas cuando se espera un amplio margen de variación, tal como ocurre en el caso de recuentos anormalmente altos o anormalmente bajos. 20 La figura 7 muestra la pendiente logarítmica de la pared del canal 20 en la porción de inserción 16.

25 La figura 6 describe una porción de inserción 26 que tiene un extremo inferior 28 adyacente o dentro de la capa de eritrocitos y que puede ser formada con una pared lateral cilíndrica en una corta distancia D. La pared lateral 30 de la porción de inserción 26 se inclina entonces hacia arriba y hacia dentro en dirección al eje de la porción de inserción 26 con un grado logarítmico u otro 30

1 grado no lineal hasta el extremo superior 32 de la por-
ción de inserción. La figura 8 ilustra el grado de pen-
diente logarítmico de la pared lateral 30 hacia el eje A.
Esta configuración permite también una exactitud acrecen-
5 tada a lo largo de un amplio margen aumentando de modo lo-
garítmico o no lineal el tamaño del volumen libre entre
la pared lateral de la porción de inserción y la pared de
taladro de tubo en que es dispuesta la capa linfática.

10 Se ha encontrado también que se puede añadir a la
muestra de sangre un material colorado de modo distingui-
ble tal como partículas teñidas de estireno que tienen den-
sidades específicas de aproximadamente 1,035 y 1,075 g/cm³,
y se le puede utilizar en unión con la pieza de inserción
alargada axialmente para definir nítidamente los meniscos
15 entre la capa de plaquetas y la capa de linfocitos de cé-
lulas blancas y entre la capa de linfocitos y la capa de
leucocitos polimorfonuclear (polis). Esta definición níti-
da interna dentro de la capa linfática ayuda a leer el re-
cuento de leucocitos y plaquetas de acuerdo con este in-
20 vento.

La figura 9 describe una forma de realización en
la que las partículas de estireno 38 son adheridas a la
pared de taladro interna 36 de un tubo capilar 34 por me-
dio de un adhesivo tal como goma acacia soluble en sangre,
25 y la porción de inserción axialmente alargada 35 es adhe-
rida similarmente a la pared de taladro 36.

Haciendo referencia ahora a la figura 10, se ense-
ña una pieza de inserción 40 que tiene generalmente forma
cilíndrica, pero que posee al menos dos zonas adyacentes
con diferentes diámetros. La zona más inferior 42 tiene un
30

1 diámetro mayor que proporcionará un mayor múltiplo de alar-
gamiento de capa linfática, por ejemplo un múltiplo de
aproximadamente veinte, y la zona más superior 44 tiene
un diámetro menor que proporcionará un menor múltiplo de
5 alargamiento de capa linfática, por ejemplo un múltiplo
de aproximadamente tres. Las dos zonas 42 y 44 están uni-
das como puente por un hombro radial 46. Esta porción de
inserción proporcionará múltiples factores de expansión
lineal para la capa linfática, y se puede utilizar para
10 indicar con rapidez un recuento anormalmente alto de leu-
cocitos y plaquetas. Este alto recuento será observado
cuando la capa linfática sea expandida por encima del hom-
bro 46. La segunda zona 44 dará entonces una rápida indi-
cación de lo elevado que sea el recuento.

15 Refiriéndose a la figura 11, se muestra una pieza
de inserción 48 que es generalmente de configuración cilín-
drica y tiene enterizamente con su extremo superior 50 un
asidero alargado 52. Este asidero puede ayudar a empaque-
tar las porciones de inserción dentro de los tubos capila-
res y sobresaldrá desde los extremos de los tubos capila-
res. El asidero 52 puede ser aprehendido de este modo con
20 las manos después de que la muestra de sangre sea impulsa-
da dentro del tubo y bombeada hacia arriba y hacia abajo
lentamente para hacer que cualesquiera colorantes existen-
tes en el tubo se mezclen con la sangre. El asidero 52 pue-
25 de ser conectado con la porción de inserción 48 junto a
una zona debilitada 54, de manera que el asidero 52 pueda
ser retirado por salto elástico de la porción de inserción,
después de mezclar pero antes de la centrifugación.

30 Con el fin de aumentar aún más la capa de leucoci-

1 tos, se podría disponer un recubrimiento de microesferas
sobre la superficie exterior de la porción de inserción
o en cualesquiera canales formados dentro de ella. Las
microesferas pueden ser adheridas entre sí a la pieza de
5 inserción por medio de un adhesivo soluble, tal como goma
acacia que se disolverá en sangre. En el caso de que se
esté ensayando algún fluido distinto de sangre, el adhe-
sivo particular utilizado será, desde luego, uno que sea
soluble en el fluido que se esté ensayando.

10 Tal como se indica anteriormente, con la utiliza-
ción de una masa que ocupa volumen, axialmente alargada,
en el taladro de tubo, el alargamiento axial de la capa
que es medida puede ser aumentado por un múltiplo en el
margen de cuatro a aproximadamente veinte. Cuando se de-
terminan recuentos de leucocitos y plaquetas en una mues-
15 tra de sangre, el margen preferido de alargamiento axial
de la capa de leucocitos es un múltiplo del margen en el
margen de aproximadamente cinco a aproximadamente quince.

20 Se ha descubierto que cuando se produce un alar-
gamiento axial de la capa linfática dentro del margen pre-
ferido, la estratificación por densidades específicas de
los componentes individuales de la capa linfática, por
ejemplo los polimorfonucleares, las células mononuclea-
res incluyendo linfocitos, monocitos y plaquetas. Los
componentes de la capa linfática se estratificarán como
25 sigue en el orden de densidad específica decreciente, los
polis, luego los monos y los linfocitos (en la misma ca-
pa), y finalmente las plaquetas.

30 Tal como se ha indicado anteriormente, cuando la
porción de inserción que ocupa volumen es formada a base

1 de un material que de la apropiada densidad específica
y tiene una dimensión axial apropiada, la porción de in-
serción se sedimentará ligeramente dentro de la porción
superior de la capa de eritrocitos de la muestra de san-
gre centrifugada. Es en esta porción de la capa de eritro-
5 citos en que los reticulocitos, o eritrocitos inmaduros,
se separan de la capa durante la centrifugación. De este
modo, la pieza de inserción provocará un alargamiento
axial de la subcapa de reticulocitos de la capa de eritro-
citos. Se ha descubierto que un recuento de reticulocitos
10 aproximado puede efectuarse también mediante la adición
de un colorante fluorescente a la muestra de sangre. Este
recuento es útil para el médico con el fin de determinar
la velocidad de producción de nuevos eritrocitos por un
paciente.

15 Para observar esta estratificación interna de la
capa linfática y la capa de reticulocitos, se añade un co-
lorante fluorescente tal como naranja de acridina, o si-
milar, a la muestra antes de la centrifugación. El colo-
rante será absorbido en grados variables por los distin-
20 tos constituyentes de la capa linfática, y por los reti-
culocitos, y así, cuando sean expuestas a la luz, las di-
versas capas fluorescerán en distintos grados. Así, los
espesores de cada subcapa dentro de la capa linfática y
los espesores de la capa de reticulocitos pueden ser obser-
25 vados iluminando el tubo con luz de la apropiada longitud
de onda. Si se desea, puede utilizarse un aumento óptico
para observar esta estratificación. El colorante puede
ser aplicado como recubrimiento sobre la pared del taladro
de tubo, puede ser aplicada como recubrimiento sobre la

1 - pieza de inserción, o puede ser insertado dentro del tala-
dro de tubo en la forma de una masa autosustentante, pero
soluble. Para utilizarse con sangre no sometida a anticoa-
gulación, puede añadirse un anticoagulante tal como hepa-
rina, de la misma manera, a la muestra de sangre. Se apre-
5 - ciará por lo tanto que este invento hace posible un recuen-
to diferencial visual simple y rápido de leucocitos y pla-
quetas y un recuento de reticulocitos mediante la utiliza-
ción de un aditivo de colorante fluorescente apropiado y
de un manantial de luz apropiado, ambos de los cuales pue-
den estar disponibles con facilidad en una consulta de mé-
10 - dico.

Un aparato formado de acuerdo con este invento que
proporcionará una expansión axial en un factor de nueve de
la distancia entre los meniscos superior e inferior de la
15 - capa linfática en una muestra de sangre plena centrifugada,
incluye un tubo de centrifuga capilar que tiene un diáme-
tro de taladro interno de 1,4 mm. La masa que ocupa volu-
men es un cilindro recto hecho de Rexolite, que es un es-
tireno reticulado que tiene una densidad específica de
20 - 1,043 g/cm³, y posee un diámetro de 1,33 mm y una altura
de aproximadamente 13 mm.

Se apreciará por los expertos en la técnica que
este invento hará posible una determinación visual o mecá-
nica del recuento de leucocitos y plaquetas en una muestra
25 - centrifugada de sangre plena, a efectuar con bajo costo y
con rapidez. Con una expansión apropiada de la capa linfá-
tica se puede efectuar una determinación diferencial de
leucocitos y plaquetas utilizando el aparato y el método
de este invento. El aparato de este invento es tal que pue-
30 -

1 - de ser envasado de modo previo y puede adoptar la forma de utensilios o accesorios desechables y baratos. No se requieren contadores de células caros y largos de utilización, para practicar la técnica de este invento.

5 Dado que muchos cambios y variaciones de las formas de realización descritas del invento pueden efectuarse sin apartarse del concepto invento, no se pretende limitar el invento de modo distinto a lo requerido por las siguientes reivindicaciones:

10

15

20

25

30

REIVINDICACIONES

1
5
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:

10
15
1ª.- Un método perfeccionado para determinar el volumen aproximado de la capa linfática en una muestra de sangre plena sometida a anticoagulación, que comprende las operaciones de introducir la muestra de sangre dentro de un tubo capilar de diámetro constante; centrifugar la muestra introducida en el tubo capilar para separar los eritrocitos, la capa linfática y el plasma por medios gravimétricos en capas distinguibles; expandir la capa linfática axialmente respecto del tubo al menos en un factor de aproximadamente cuatro; y medir la distancia entre los meniscos superior e inferior de la capa linfática mientras que la muestra permanece en el tubo para proporcionar una indicación general de si el recuento de leucocitos y plaquetas es alto, bajo o normal.

20
25
2ª.- El método de la reivindicación 1ª, para realizar un recuento diferencial de leucocitos y plaquetas en la muestra de sangre, caracterizado por colorear en distintos grados los diversos tipos de leucocitos y plaquetas componentes para formar bandas coloreadas de modo distintivo en el tubo, y medir la extensión axial de tales bandas así formadas.

30
3ª.- El método de la reivindicación 1ª, caracterizado por la operación de añadir un colorante a la muestra de sangre centrifugada que es absorbido por la capa de

1 reticulocitos de la muestra de sangre centrifugada, para formar una banda coloreada de modo distintivo de reticulocitos en el tubo, y medir la extensión axial de la banda de reticulocitos.

5 4ª.- Un método perfeccionado para determinar el volumen aproximado de la capa linfática en una muestra de sangre plena sometida a anticoagulación.

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

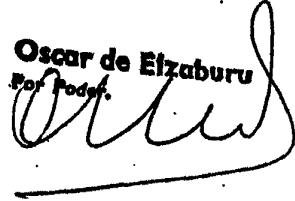
10 Esta Memoria consta de veinte hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 22. JUL. 1977

P.A.

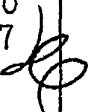
15

Oscar de Eizaburu
Por Poder.



20

25



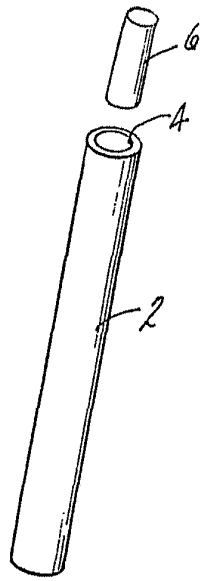


FIG-1

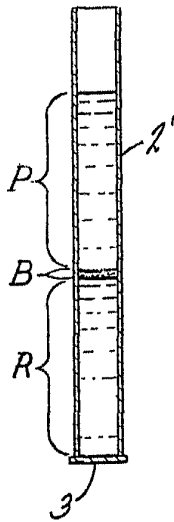


FIG-2

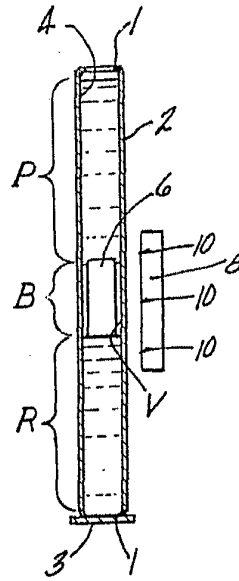


FIG-3

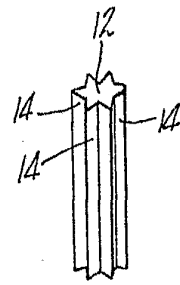


FIG-4

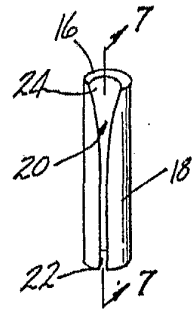


FIG-5

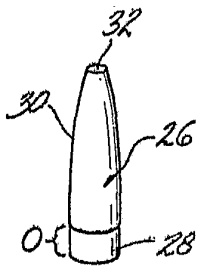


FIG-6

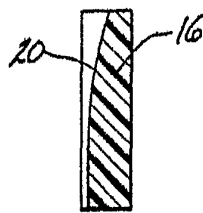


FIG-7

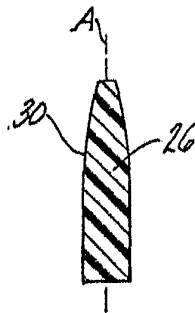


FIG-8

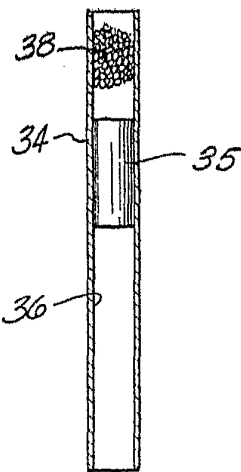


FIG-9

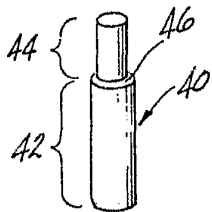


FIG-10

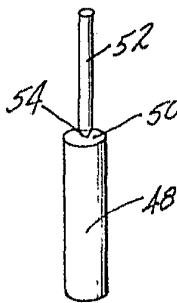


FIG-11

Oscar de Elzaburu
Per Eder.