



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 284 178**

51 Int. Cl.:
G01N 15/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **97309373 .5**

86 Fecha de presentación : **20.11.1997**

87 Número de publicación de la solicitud: **0844475**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **27.05.1998**

54 Título: **Aparato para medir el tamaño de partículas.**

30 Prioridad: **20.11.1996 GB 9624096**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.11.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.11.2007

73 Titular/es: **Cellfacts Instruments Limited
The Viscount Centre
University of Warwick Science Park
Milburn Hill Road
Coventry CV4 7HS, GB**

72 Inventor/es: **Wood, Michael Anthony**

74 Agente: **Sugrañes Moliné, Pedro**

ES 2 284 178 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Aparato para medir el tamaño de partículas.

La invención se refiere a un aparato de dimensionamiento y recuento de partículas o células y a procedimientos de operación del mismo. En particular, la invención se refiere a un aparato que usa una técnica de medir la impedancia en un orificio para determinar el volumen de una partícula que pasa a través del orificio.

Por el documento EP 0162607 se conoce la determinación del tamaño de una partícula a partir de la variación de la impedancia entre un par de electrodos en un electrolito debido al flujo de partículas por un orificio en un reductor de flujo dispuesto entre los electrodos. Un problema inherente de este tipo de sistema sin embargo, es que se puede producir un bloqueo del orificio parcial o completo durante las mediciones que requiere que el reductor de flujo que comprende el orificio deba extraerse para limpiarse para permitir más mediciones. Adicionalmente, si solamente se produce un bloqueo parcial la distribución observada de los tamaños de las partículas en una muestra se verá afectada debido a que se impide el flujo a causa del bloqueo de partículas más grandes a través del orificio. Este problema es particularmente frecuente si se desea usar un diámetro de orificio pequeño de digamos cinco veces el promedio del tamaño de las partículas para hacer posible una buena precisión de los resultados del dimensionamiento de las partículas.

El documento GB-1371432 describe un aparato para determinar el tamaño de partículas dentro de un fluido basándose en una variación de la impedancia medida entre dos electrodos dispuestos en lados opuestos de un orificio a través del que fluye dicho fluido, en el que un bloqueo de dicho orificio se determina comparando una tasa medida de la aparición de impulsos de señal provocados por las partículas que pasan por dicho orificio con una tasa normalmente anticipada.

La invención busca evitar o al menos mitigar problemas de la técnica anterior incluyendo el abastecimiento de un aparato que detecta el bloqueo y opcionalmente desbloquea el orificio en caso de bloqueo parcial o completo.

Según la invención se proporciona un aparato como se expone en la reivindicación 1.

Se exponen características preferentes en las reivindicaciones subordinadas.

Se describirán ahora formas de realización de la invención solamente a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos en los que;

la fig. 1 es una vista en perspectiva esquemática de una varilla de muestras y un alojamiento de la cámara de muestras que forman parte del aparato según la invención;

la fig. 2 es una vista en alzado frontal esquemática de la guía de alineación de la varilla de muestras como se muestra en la figura 1;

la fig. 3 es un diagrama de bloques esquemático del aparato de control de fluido según la invención;

la fig. 4 es una vista en sección por una cámara de muestras según la invención;

la fig. 5 es una vista desde un extremo desde el interior del aparato de la cámara de muestras mostrada en la figura 4;

la fig. 6 es una vista en sección parcial de la cámara de muestras mostrada en las figuras 4 y 5;

la fig. 7 es una vista en perspectiva esquemática de un orificio en un reductor de flujo,

la fig. 8 es una vista en perspectiva esquemática de un segundo reductor de flujo según la invención;

las figs. 9a, b y c son vistas laterales esquemáticas del reductor de la figura 8 en tres modos de uso diferentes.

la fig. 10 es un diagrama de bloques esquemático de parte del sistema de control electrónico para el aparato según la invención;

las figs. 11a y 11b son un diagrama de circuito para parte del circuito de amplificación para el aparato según la invención; y

la fig. 12 es una vista esquemática de un impulso de señal detectado y analizado por el aparato según la invención.

Con referencia a la figura 1 se muestra parte de un aparato de dimensionamiento de partículas 10 según la invención que comprende un alojamiento principal 12 desde el cual sobresale un alojamiento de la cámara de muestras 14 que tiene una entrada 16 por la cual pasa una muestra a una primera cámara 52 mostrada en la figura 4. Adicionalmente, una guía de la varilla 18 sobresale del alojamiento 12. La guía de la varilla 18 comprende una ranura o canal vertical 20 que hace posible la alineación de la tobera 24 de la varilla manual 26 con la entrada 16. La varilla manual 26 comprende además una boquilla reemplazable 28, un botón 30, tubería de entrada de fluido 32 y conexión eléctrica 34. Como se muestra en la figura 2 la guía de la varilla 18 comprende un par de detectores 22 como detectores ópticos para determinar si la tobera de la varilla 24 está en su lugar dentro de la ranura 20.

Con referencia a la figura 3 se muestra un dibujo esquemático del sistema de control de fluido 36 usado en el aparato 10. En el sistema de control de fluido 36 un depósito de diluyente 38, que puede alojar digamos tres litros de electrolito por ejemplo, está conectado a lo largo de una trayectoria a una válvula de tres vías 40 que se conecta en una salida a un accionamiento de jeringa 42 que puede comprender un motor paso a paso de 12 voltios por ejemplo, y en otra salida es conectable a la varilla 26 por la tubería de entrada de fluido 32.

El depósito 38 también se conecta a través de un conector en T 44 a un sensor de diluyente 41, que puede ser un dispositivo óptico para determinar si el diluyente está presente. Una bomba 46 como una bomba peristáltica de CC de 12 voltios, lleva diluyente al alojamiento de la cámara de muestras 14 a través de un conector en Y 48.

Una salida del conector en Y 48 se conecta al tubo 50 que tiene una válvula 51 como una válvula de pinza accionada eléctricamente, que controla el flujo de diluyente por el tubo 50 a una primera cámara 52 que forma parte del alojamiento de la cámara de muestras 14. La otra salida del conector en Y 48 pasa por el tubo 54 que tiene una válvula 56, de nuevo como una válvula de pinza accionada eléctricamente, que controla el flujo de fluido por el tubo 54 a una segunda cámara 58 del alojamiento de la cámara de muestras 14. Las cámaras primera y segunda 52 y 58 respectivamente, están separadas por un reductor de flujo 60 que tiene un orificio 63 (véase la figura 7, 8 y 9). La cámara de muestras 14 se muestra en mayor detalle en las figuras 4 a 6.

El sistema 36 comprende además un sistema de succión que comprende un par de bombas de vacío

62. Cada bomba está conectada a un depósito de vacío 64 a través de una válvula 66, como una válvula de pinza accionada eléctricamente. Tubos de purga 68 pasan casi al fondo del depósito 64 para hacer posible así la expulsión de cualquier líquido en el depósito 64 a través de al menos una de las válvulas 66, la bomba 62 y la salida 70 de este modo para la eliminación.

El depósito 64 está conectado además a través del tubo 72 a la segunda cámara 58 del alojamiento 14. El tubo 72 comprende además una válvula 74 como una válvula de pinza y un transductor de presión 76 como un dispositivo de controles Honeywell de tipo 141PC05G. El depósito 64 está conectado además a la primera cámara de muestras 52 a través del tubo 78 que tiene una válvula 80.

Con referencia a las figuras 4 a 6, se muestra el alojamiento de la cámara de muestras 14 que comprende preferentemente un escudo exterior 15 contra la radiación electromagnética como una carcasa metálica. La entrada 16 da a la primera cámara 52 que está separada de la segunda cámara 58 por medio del reductor de flujo 60. Las cámaras pueden estar hechas en un cuerpo de material inerte como un acrílico u otro plástico. El reductor de flujo puede comprender un material cristalino como rubí, zafiro, o aluminio o un polímero que tiene un orificio 63. En una forma preferida el reductor comprende un material piezoelectrico. Como se muestra en la figura 7 el orificio 63 tiene longitud L y diámetro D, por ejemplo una longitud de 80 micrómetros y diámetro de 30 micrómetros se prefiere para ciertos tamaños o volúmenes de la partícula P la cual durante la medición fluye a través del orificio 63 a lo largo de la dirección F. Sin embargo, son posibles otros tamaños de orificio. El tubo de diluyente 50 hace posible que el diluyente pase a la primera cámara 52 mientras que el tubo 78 hace posible la evacuación de la primera cámara.

De forma similar el tubo 54 permite que el diluyente pase a la segunda cámara 58 y el tubo 72 hace posible la evacuación del mismo. En la práctica los tubos pueden comprender diferentes tipos de pasajes, canales y conectores según sean apropiados. Preferentemente los tubos 50 y 54 están dispuestos para dirigir el líquido en el reductor de flujo 60. Las entradas al alojamiento de la cámara de muestras 14 se muestran en la figura 5.

En la figura 6, se puede ver que una cavidad 61 se puede proporcionar para aguantar el reductor de flujo 60 para separar así la cámara 62 y 58. También se pueden usar juntas tóricas para sellar los bordes del reductor de flujo 60. Adicionalmente, se muestran electrodos 82 y 84 eficazmente en lados opuestos del reductor de flujo 60, es decir uno en cada una de las cámaras 52 y 58. Los electrodos pueden estar hechos de platino por ejemplo y son conectables a un sistema de control electrónico a través del conector 86.

Se ha encontrado particularmente útil montar los electrodos 84 y 82 al alojamiento 14 usando un sellador y adhesivo de dos componentes. Esto es para evitar la fuga de fluido de las cámaras 51 y 58 y mantener el electrodo en una posición correcta a pesar de montar y desmontar el alojamiento de la cámara 14 del alojamiento principal 12. Preferentemente, los electrodos se instalan en una cavidad en el alojamiento 14 que puede estar hecho de acrílico u otro material polimérico. La parte superior de la cavidad, que está adyacente a las cámaras de fluido, se sella con un material de sellado de vacío y resistente al agua como

un sellador a base de silicona, por ejemplo caucho de silicona RTV. Una segunda etapa de adhesivo se coloca por debajo del sellador para montar el electrodo en las paredes de la cavidad. Un adhesivo apropiado es un adhesivo acrílico estructural. En una forma preferida, el alojamiento de la cámara 14 está hecho de acrílico, los electrodos tienen un revestimiento de platino exterior o están hechos de platino y el sellador y fijador en dos etapas comprende caucho de silicona RTV y adhesivo acrílico estructural.

Preferentemente, el alojamiento de la cámara 14 es fácilmente desmontable del alojamiento principal 12.

Como consecuencia, el conector eléctrico 86 es preferentemente un conector simple de tipo bayoneta que comprende componentes machos adaptados para encajarse en un enchufe hembra en el alojamiento 12 por ejemplo. Adicionalmente, como se muestra en las figuras 4 y 5, los tubos 72, 54 y 78 permiten la fácil instalación en el alojamiento 12 y pueden por ejemplo ser la parte hembra de una conexión macho/hembra. Como consecuencia, el alojamiento de la cámara 14 se puede montar y extraer del alojamiento principal 12 en una simple operación de vaivén.

Con referencia a las figuras 8 y 9 se muestra una segunda forma de realización de un reductor de flujo 60 según la invención en el que el orificio 63 es cónico. Por ejemplo, la abertura en un lado del reductor 60 podría ser de 32 a 38 micrómetros de diámetro mientras que el orificio en el otro lado podría ser de 30 micrómetros. Como consecuencia, una conicidad de digamos de 2 a 8 micrómetros del diámetro del orificio está afectada a través de su longitud de digamos 80 micrómetros. Preferentemente, el orificio más estrecho está orientado hacia la segunda cámara 58 de tal modo que en el uso, como se muestra en la figura a, donde el reductor 60 está hecho de material elástico, se flexiona creando un orificio 63 que tiene aproximadamente lados paralelos haciendo posible así el flujo laminar a través del orificio. La posición de reposo se muestra en la figura b y una posición de operación de resoplado o despeje se muestra en la figura c. La operación de despeje se describe con más detalle posteriormente. Preferentemente, el reductor de flujo está hecho de un polímero como un policarbonato no fluorado como polietileno o poliestireno. El orificio se puede grabar con láser en el reductor de flujo.

Preferentemente, para ayudar en la limpieza de un orificio bloqueado 63, la segunda cámara 58 comprende una región cónica 59 que se estrecha hacia el reductor de flujo 60 (véase la figura 4). Adicionalmente, preferentemente la entrada del tubo 54 a la cámara 58 está alineada axialmente con el orificio 63 para que el fluido que pasa a la cámara 58 sea dirigido para efectuar una turbulencia en el reductor de flujo 60 y posiblemente provocar el flujo inverso del diluyente por la primera cámara 52. La conicidad de la cámara 58 ayuda en este flujo inverso y adicionalmente provoca la circulación de diluyente en la cámara 58 ayudando en la limpieza de la misma. Además, un reductor flexible 60 proporciona la configuración de despeje aumentado mostrada en la figura c.

Con referencia a la figura 10 se muestra un diagrama de bloques esquemático de un sistema de control electrónico 88 para el aparato según la invención. El sistema 88 comprende una etapa amplificadora 92 para detectar y amplificar una señal de los electrodos 82 y 84.

Se proporciona una unidad de alimentación de señal 94 que genera un voltaje positivo o negativo para ser aplicado a través de los electrodos 82 y 84, por ejemplo se prefiere un voltaje de 150 voltios; sin embargo, a través de los electrodos, esto puede ser algo menor y puede ser de 30 voltios aproximadamente. La placa amplificadora 92 proporciona una conexión a tierra al escudo 15 alrededor del alojamiento de la cámara 14, y se conecta adicionalmente al transductor de vacío 76 y una sonda de temperatura o termopar 95 como un dispositivo LM35CAH de tipo National Semiconductor que puede estar ubicado para la medición de la temperatura del diluyente en la segunda cámara 58.

Una señal de muestra amplificada se comunica a un potenciómetro variable de 3½ dígitos 96 a lo largo de la línea 98 desde la etapa amplificadora 92. El potenciómetro forma parte de una placa atenuadora 100 que hace posible el ajuste de la ganancia de señal según sea necesario para el tamaño del orificio y aplicación seleccionados. La salida desde la placa atenuadora 100 es suministrada a un convertidor analógico a digital de 14 bits en la placa de medición 102. La corriente de electrodo, la señal de vacío y la señal de temperatura son suministradas a lo largo de las líneas 104, 106 y 108 respectivamente desde la placa amplificadora 92 a un convertidor analógico a digital de 8 bits en la placa de medición 102. La placa de medición 102 comprende un canal de conversiones de 500 kHz o 1 MHz a 14 bits, un almacenamiento local para un canal de datos de 14 bits, ocho canales de conversión A-D de 8 bits (lento) a una conversión de 100 microsegundos, registros de estado de control para estos dispositivos, 16 bits de control de salida digital y 16 bits de control de entrada digital.

Las líneas 110 y 112 se proporcionan entre la placa de medición 102 y la placa amplificadora 92 respectivamente para hacer posible la inversión de la polaridad del voltaje a través de los electrodos 82 y 84 y también para comenzar y detener una secuencia de calibración de electrodo que se describirá posteriormente.

Una serie de puertos de entrada/salida digital se proporcionan desde la placa de medición 102. Estos se conectan en las líneas 114 a 120 a un accionador de un motor paso a paso 43 el cual se conecta a su vez a un motor paso a paso de jeringa 42. La línea 114 porta una señal opto desde el accionamiento de jeringa que indica que la jeringa está en su posición de inicio. Las señales de reloj, de habilitación y de dirección son transmitidas al accionador paso a paso 43 a través de las líneas 116, 118 y 120 respectivamente.

Los otros puertos de entrada/salida en la placa de medición 102 se comunican con la placa accionadora 122. Esta placa, por ejemplo, controla la apertura y el cierre de las válvulas 51, 56, 66, 74 y 80. También controla la bomba de diluyente 46 y las bombas de vacío 62. El sensor de diluyente 41 y el botón de la varilla para el usuario 30 también se conectan a la placa accionadora 122.

Una unidad de alimentación 90 proporciona el voltaje requerido para accionar el sistema 88. También, un dispositivo programable como un ordenador 103 se proporciona para accionar y comunicarse con las placas 100 y 102 (u otros elementos según sea necesario). También se proporciona un dispositivo periférico como una pantalla y/o impresora 124.

Con referencia a las figuras 11a y 11b se muestra

un diagrama de circuito para parte de la placa amplificadora 92. Una trayectoria de amplificación de señal de partículas comprende cuatro amplificadores operacionales de bajo nivel de ruido CI10, CI11, CI12 y CI13 que tienen componentes selectivos de frecuencia que permiten la filtración del paso de banda de la señal para extraer el ruido de la CC y la alta frecuencia. El amplificador CI11 tiene un potenciómetro de ajuste de ganancia que se puede fijar durante la fabricación y sellar. El amplificador CI13 provee a la placa amplificadora 92 de un ajuste de desplazamiento de CC (digamos -3,2V) usando la red de resistencias y del potenciómetro R35, R36, VR3 y R37. Un electrodo (82 u 84) se conecta a CN1 y está acoplado para AC al amplificador operacional CI10 a través del capacitor C38. Una fuente de voltaje que genera señal 94 de digamos 150 voltios en este ejemplo, se conecta a la trayectoria de la señal en la línea privada 5 y es controlada por el relé de láminas RL1. Las resistencias R23 y R22 forman una trayectoria de impedancia alta en comparación con el electrolito del diluyente a través del orificio haciendo que la fuente 94 parezca un generador de corriente constante.

La salida de señal amplificada en CN2 pasa a lo largo de la línea 98 a la placa atenuadora 100 mostrada en la figura 10. Una señal de corriente del orificio se puede derivar de la corriente CC que fluye por la cadena VR4, RL1, R23, R22, R21, R47 y el orificio 63 a través de CN1. La fuente de voltaje del electrodo 94 se conecta en la línea privada 5 y un voltaje proporcional a la corriente del orificio es expresado a través de VR4 y R47 y amplificado por CI14a. Esto está condicionado además en el amplificador CI14b y la salida a la placa de medición 102 a través de la línea 104 mostrada en la figura 10.

El funcionamiento del sistema es como sigue. El sistema está calibrado formalmente para un voltaje de electrodo, diámetro de orificio y diluyente dados usando partículas maquinadas inorgánicas de tamaño o volumen conocidos. Después de la calibración en fábrica, se puede llevar a cabo una verificación de calibración adicional durante el uso del sistema como se describe posteriormente. Las cámaras tanto primera como segunda 52 y 58 de la cámara de muestras 14 son lavadas abriendo alternativamente la válvula 51 y 56, y las válvulas 80 y 74 respectivamente, y bombeando el diluyente usando la bomba 46. Por ejemplo, las cámaras 52 y 58 se pueden llenar y vaciar usando el sistema de vacío que incluye la bomba 62 y el tubo 72 y 78, por ejemplo una serie de tres veces antes de llenar de nuevo la cámara 62 y 58 para hacer posible una prueba de calibración eléctrica. Una serie de impulsos de calibración se aplica a uno de los electrodos 82 o 84 en CN1 que usa CI9 mostrado en las figuras 11a y 11b como un dispositivo de temporizador de CMOS 555. El voltaje de salida en CN1 se puede controlar por ejemplo a 12 voltios pico a pico para hacer posible así una medición de impedancia a través del orificio cuya señal podría ser por ejemplo del orden de 1 milivoltio para un orificio de 30 micrómetros nominal. La anchura del impulso puede ser del orden de 20 a 40 microsegundos para frecuencias del orden de 15 a 20 kHz, o 100 microsegundos para 10 kHz. La altura del impulso media y el número de impulsos son monitorizados como parte de la verificación de calibración, un total de tres mediciones de calibración repetidas se pueden intentar antes de que la secuencia sea abortada y una señal de condi-

ción de error proporcionada al usuario por ejemplo en una pantalla VDU o dispositivo de salida similar 124 conectado a la placa 102. El contenido de fluido del depósito de diluyente 38 se comprueba entonces por ejemplo usando un sensor 41 conectado a la placa 122 mostrada en la figura 10.

La jeringa 42 se carga entonces dirigiendo la válvula de tres vías 40 para transmitir fluido desde el depósito 38 a la jeringa 42 y accionando el motor paso a paso 43 un número de etapas calibradas para cargar la unidad de la jeringa de un volumen conocido de diluyente como 1 mililitro. Al usuario se le solicita entonces que coloque una boquilla esterilizada desechable 28 en el extremo de la tobera 24 de la varilla 26 y presione el botón 30 para confirmar. El usuario coloca entonces la boquilla desechable en el fluido de muestra y opera de nuevo el botón 30 y la jeringa 42 se descarga de una cantidad preprogramada para arrastrar así fluido de muestra a la boquilla desechable 28.

El usuario coloca la varilla de muestras para que la tobera 24 se alinee en la ranura 20 y la boquilla 28 se proyecta hacia dentro de la primera cámara 52. La primera cámara 52 es vaciada abriendo la válvula 80 y usando la bomba 62. El operador presiona el botón 30 para iniciar una secuencia de dispensación en la que la jeringa 42 es impulsada con la válvula 40 que dirige fluido por la tubería 32 de tal modo que la muestra y el diluyente son emitidos desde la varilla 26 a la primera cámara 52. Si durante esta operación, los detectores 22 determinan que la tobera 24 no está en su posición o se ha separado de esta posición en el canal 20, el sistema espera a que la tobera se reposicione correctamente. Si la aspiración, dilución y presentación de la muestra a la cámara 52 no se completa en un intervalo predeterminado, por ejemplo 2 minutos, la medición es abortada y la cámara de muestras limpiada y el procedimiento reiniciado.

Se apreciará que es posible determinando el grado de movimiento de la jeringa 42 en cualquier dirección cuantificar, usando el motor paso a paso 43, la cantidad de muestra arrastrada hacia arriba por la boquilla 28 y la cantidad de diluyente arrastrado a la jeringa 42 que se mezclará con la misma, y por tanto la concentración de muestra y diluyente se puede determinar con precisión.

La segunda cámara 58 se ceba de nuevo con diluyente por el tubo 54 abriendo la válvula 56 y operando la bomba 46 para asegurar que esté sustancialmente llena. La cantidad de diluyente debería ser suficiente para hacer posible una trayectoria conductora eléctricamente entre los electrodos 82 y 84 a través del reductor de flujo 60. Preferentemente un cebado inicial de la segunda cámara 58 se lleva a cabo pasando diluyente por el tubo 54, como se ha descrito previamente, provocando una turbulencia en la cámara 58. Esto actúa para reducir la posibilidad de bloqueo del orificio 63.

El depósito de vacío 64 se evacua de fluido usando bombas 62 de tal modo que cuando la válvula 80 y 74 se cierran un vacío del orden de 130 mm Hg (17,3 kPa) se establece en el depósito 64 según se lea por el transductor 76. Por ejemplo, una de las bombas 62 puede ser desconectada o la válvula asociada 66 cerrada, al alcanzar el 90% de la presión de vacío predeterminada y usando sólo una bomba 62 para conseguir el nivel de vacío predeterminado.

La válvula 74 se abre con la válvula 56 cerrada y como consecuencia algo de muestra y diluyente se

arrastra a través del orificio 63 del reductor de flujo 61, es decir entre las cámaras 52 y 58. El voltaje conocido se aplica al electrodo 82 (o 84). Después de una demora estabilizadora de digamos 2 segundos, la corriente a través del orificio, es decir entre los electrodos 82 y 84 se comprueba en la línea 104 (véase la figura 10). El valor de arranque o valor inicial de corriente se almacena para su uso en comprobaciones comparativas posteriores.

Preferentemente el alto voltaje de CC es extraído y una señal de referencia calibradora es aplicada al electrodo 82 (o 84) como se ha descrito previamente.

El voltaje de CC conocido, se aplica al electrodo 82 y la señal resultante amplificada entre CN1 y CN2 de las figuras 11a y 11b y la salida desde la placa amplificadora 92 en la línea 98 se muestra en la figura 8. Un ejemplo del tipo de impulso observado cuando una partícula pasa a través del orificio 63, se muestra en la figura 12. La señal de impulso S tiene una altura, o voltaje, determinado por el volumen de la partícula. La anchura W del impulso está determinada por el tiempo durante el cual la partícula fluye a través del orificio, es decir la tasa de flujo y la longitud axial L del orificio. La señal también tiene un ruido de fondo característico N.

En un ejemplo de la operación del sistema, el dispositivo programable 103 envía una señal a la placa de medición 102 para iniciar una conversión de datos de 14 bits a 16384 conversiones cada dos microsegundos cada una. La ganancia en la placa atenuadora 100 se puede ajustar entonces según sea necesario para introducir la señal en un intervalo apropiado. Cuando se capturan los datos, se pueden enviar desde la placa de medición 102 para almacenarse por ejemplo en la RAM del ordenador que forma parte del dispositivo 103. La señal tal como se muestra en la figura 10 es analizada, por ejemplo, aplicando un algoritmo de nivelación a los datos sin procesar para extraer el ruido de alta frecuencia.

Dentro de un conjunto o lote de datos capturados dado, el sistema detecta una señal de impulso S por un borde delantero en aumento durante un tiempo. Un número mínimo de valores de muestras de tendencia positiva se requieren para activar la búsqueda de un borde de tendencia negativa correspondiente para detectar así una señal de impulso S. Un impulso potencial es rechazado si un número mínimo de muestras de tendencia negativa no se detecta después de pasar por una posición de pico. El sistema mide la anchura de la señal como el punto a medio camino a lo largo del borde delantero a un punto en un borde posterior donde el voltaje pasa a ser menor que el punto de arranque en el borde delantero. Conociendo las tasas de flujo de partículas esperadas, es posible detectar el flujo de fluido descendente a través del orificio por una anchura de impulso en aumento. Esto puede ser indicativo de un bloqueo parcial del orificio 63. Sin embargo, si la anchura del impulso es demasiado estrecha, estos datos son rechazados como ruido más que como una señal. La altura del impulso de la señal S se puede medir entre un nivel de línea de base neto en el ruido N, la señal S adyacente y el valor de pico de la señal S medio o promedio. Como alternativa, la altura de pico se puede determinar simplemente a partir del valor en el primer punto de tendencia positiva en unas señales de impulso detectadas y tomando la diferencia entre este valor y aquel en el máximo del impulso.

El área de impulso se calcula por la integración de

la señal S y se almacena tanto para un lote como para un histograma acumulativo para la muestra.

Ocasionalmente, dos partículas pasan a través del orificio 63 a la misma vez. Esto puede resultar en un único impulso representativo del volumen de ambas partículas, sin embargo, a veces ambos impulsos son resolubles el uno del otro ya que se observa un primer pico seguido de un impulso de tendencia negativa que no alcanza el voltaje de línea de base antes que se produzca un segundo impulso de tendencia positiva debido a la segunda partícula. Estas incidencias se pueden denominar coincidencia primaria y secundaria respectivamente. Preferentemente, la concentración de muestra de digamos un millón de partículas por ml es de tal modo que estás coincidencias se producen muy raramente, sin embargo, los impulsos de la coincidencia secundaria aún se pueden analizar y formar parte de los datos extrapolando a lo largo el borde de tendencia negativa del primer impulso para determinar una anchura de impulso y también extrapolando el borde de tendencia positiva del segundo impulso también para determinar una anchura de impulso. El valor inicial en el borde delantero del primer impulso se puede usar en la determinación de la altura del segundo impulso.

Para cada señal detectada en un lote la anchura del impulso y la altura del impulso son almacenadas y añadidas a los datos para ese lote. Si se determina que el lote de datos es bueno, las comprobaciones llevadas a cabo se describen más adelante, los datos del lote se añaden a un histograma de altura de impulso acumulativo, el cual es indicativo de la distribución del volumen de las partículas para la muestra, y al histograma de anchura de impulso acumulativo. En este ejemplo cada lote de datos representa las señales por encima de 32 ms de datos capturados. También el número de impulsos detectado se almacena como un valor de corriente de lote y total para todos los lotes de una muestra dada (es decir una serie de mediciones). También se puede llevar a cabo un almacenamiento adicional de ruido de digamos cualquier región de ruido que no contenga una señal de impulso S para un conjunto dado de datos capturados. Un valor de corriente derivado de eso antes y después del lote de datos se almacena como un valor medio de las dos mediciones. El valor de corriente es extraído en el PCRT del circuito mostrado en la figura 9, o la línea 104 de la placa amplificadora 92 mostrada en la figura 10. El nivel de vacío en el depósito 76 también se mide para cada lote. Los datos del lote se añaden a los datos de muestras globales para proporcionar histogramas de muestras acumulativos.

Típicamente, las mediciones de una muestra se hacen en un periodo de tiempo de veinte o treinta segundos durante el cual se provoca que la muestra fluya a través del orificio 63, preferentemente de una en una partícula. El flujo se puede mantener por la evacuación repetida del depósito de vacío 64 usando la bomba 62 para retener una baja presión en el depósito que arrastra muestra desde la cámara 62 por todo el recorrido hasta la cámara 58, es decir debido a la sobrepresión de presión atmosférica en la entrada 16 a la cámara 52. Por ejemplo, tres evacuaciones sucesivas de la cámara 64 a una presión prefijada podrían ser necesarias en un periodo de medición de treinta segundos, dependiendo de con qué frecuencia una secuencia de desbloqueo, descrita anteriormente, se lleva a cabo.

En condiciones de bloqueo, la impedancia entre los electrodos 82 y 84 varía de una manera significativa y esto afecta a la ganancia, de lo que podría considerarse el orificio 63, o la etapa amplificadora C110 y así sucesivamente. Bajo estas condiciones, una señal de impulso S se puede aproximar a la de una onda cuadrada. Esto se puede monitorizar analizando una señal de impulso S detectada desde la diferencia de tiempo entre la señal que aumenta por dos umbrales de voltaje distintos y predeterminados por encima del nivel de desplazamiento de CC, y el tiempo durante el cual la señal vuelve atrás por los dos niveles de voltaje predeterminados. Si la diferencia de tiempo entre el paso por los niveles inferiores y los niveles superiores es sustancialmente igual y distinta de cero entonces es indicativa de un bloqueo que se ha producido en el orificio 63. Adicionalmente, donde una señal de onda cuadrada es seguida de una curva de recuperación que tiene una tasa de recuperación característica determinada por el conjunto de circuitos electrónicos y que es de tendencia positiva, en el sentido de la señal S mostrada en la figura 12, entonces esta señal es indicativa de una partícula muy grande en la proximidad del orificio 63. El impulso es designado un impulso rechazado.

El ruido de fondo N también es monitorizado. Analizando el dominio de frecuencia del ruido, siguiendo la transformación de Fourier, es posible detectar un bloqueo parcial ya que la ganancia del amplificador está afectada y la amplificación de frecuencia anómala se puede ver. Si un factor de digamos dos diferencias de amplitud se ve en cualquier componente de frecuencia entonces los datos pueden ser rechazados. Como consecuencia, la comparación entre el ruido de fondo y un promedio de ruido de fondo puede indicar un bloqueo parcial o completo del orificio 63.

Para comprobar si un lote de datos dado es aceptable, una primera comprobación puede ser el número de impulsos observados en el periodo de la captura de datos. Si el número de impulsos varía de una manera significativa en comparación con el número medio de impulsos por lote, digamos por ser mayor del o menor del 50%, o alternativamente una desviación estándar del medio o ligeramente más, los datos pueden ser rechazados. También, se puede hacer la comparación del valor de corriente medio en el arranque y acabado de la captura de los datos del lote con el valor de corriente de arranque. Si la diferencia es mayor de digamos el +/- 20% entonces los datos del lote pueden ser rechazados. Adicionalmente, se puede comprobar el valor de corriente medio comparado con el valor de corriente medio para el lote de datos previo. Si la diferencia es más que digamos un aumento del 10% o un decremento del 5%, entonces los datos del segundo lote pueden ser rechazados. Adicionalmente, se puede hacer la comparación del ruido con los límites estáticos. Por ejemplo, usando el análisis de Fourier si un componente de frecuencia dado varía por un factor de dos en comparación con el medio, entonces esto se puede tomar como datos defectuosos. Se hace la comparación de la anchura de impulso individual o media para un lote de datos con la anchura de impulso media acumulativa. Si la discrepancia es mayor de digamos el 10% entonces el lote de datos puede ser rechazado asumiendo que un número significativo de impulsos se detecta por lote, digamos al menos 30 y preferentemente 100 impulsos por lote.

Adicionalmente, el número de impulsos rechazados, o impulsos de onda cuadrada es monitorizado, los datos se pueden rechazar cuando se observa uno o bien más impulsos rechazados en un lote dado. En caso de cualquiera de estos sucesos ocurrentes que lleva al rechazo de los datos, una secuencia de desbloqueo es preferentemente iniciada.

Preferentemente, la secuencia de desbloqueo es iniciada desconectando el voltaje de CC en el electrodo 82 y aplicando una secuencia de impulso que puede ser la secuencia de impulso de calibración. Como consecuencia, una vibración de frecuencia alta, en el intervalo de frecuencia de digamos 5 a 20 kHz, se establece dentro del electrolito. La cámara 58 es también cebada operando la bomba 46, abriendo la válvula 56, mientras que la válvula 74 también está abierta. La secuencia de cebado se termina después de un corto periodo de tiempo de digamos 100 milisegundos, y los impulsos de calibración o ultrasónicos también se desconectan. El alto voltaje de CC se reaplica al electrodo 84 y se permite que transcurra una demora de tiempo de digamos un segundo para estabilizar el flujo de fluido. Se reanuda entonces la secuencia de medición de datos cuando la placa de medición es reiniciada, se ajusta de nuevo la placa atenuadora y se registra un valor de corriente inicial.

Preferentemente, los datos recibidos que preceden inmediatamente a una secuencia de desbloqueo son sustraídos de datos acumulativos y rechazados por ser

inconsistentes.

La secuencia de medición es repetida hasta que la cantidad requerida de fluido haya pasado a través del orificio. Esto se determina conociendo el tamaño del orificio 63, la tasa de flujo a partir de las anchuras de impulsos y la duración de la medición. La medición de una muestra también se puede parar cuando se ha medido el número requerido de partículas dentro de un intervalo de conjunto, o se produce un error fatal y no se rectifica como al cambiar la corriente del orificio y no volver al valor de la corriente de arranque, quedarse vacío el depósito de diluyente, pasar a ser inconsistente la repetición de datos, o aumentar el nivel de ruido de línea de base por encima de un nivel estático aceptable.

Al completarse una secuencia de medición, se evacua la muestra de la cámara 52 abriendo la válvula 80. El lado de la muestra de la cámara 52, se puede entonces limpiar por un número de ciclos de enjuague abriendo la válvula 51 y bombeando en la bomba 46.

Preferentemente, se realiza una secuencia de lavado inteligente por la que la concentración de partículas de muestra de una muestra previa es monitorizada es decir a partir del número de señales de partículas detectadas en un volumen de medición conocido. El aparato se puede calibrar para determinar cuántos enjuagues son requeridos para limpiar las cámaras siguiendo una concentración de muestra dada.

REIVINDICACIONES

1. Aparato (10) para determinar el tamaño de una partícula o célula dentro de un fluido, que comprende una cámara de muestras (14) para el fluido, un reductor de flujo (160) que comprende un orificio (63), un par de electrodos (82, 84) dispuestos en lados opuestos del orificio (63) y un medio para medir una señal (102) representativa de la variación de la impedancia entre los electrodos (82, 84) para determinar así el tamaño de las partículas o células dentro del fluido que pasa a través del orificio (63), y que comprende además un medio para detectar el bloqueo del orificio (63), tanto parcial como completo, medio de detección que comprende un medio para monitorizar la señal y está configurado para detectar la aparición de una variación predeterminada de la señal indicativa del bloqueo del orificio (63) en el que el medio de medición está configurado para medir impulsos de señal ocasionados por el paso de partículas o células a través del orificio, el medio de monitorización está configurado para determinar una anchura del impulso de la señal para cada señal detectada en un lote, siendo almacenada y añadida la anchura del impulso a los datos para ese lote, y para comparar la anchura de impulso individual o media para un lote con un valor predeterminado, el aparato está configurado de tal modo que si se determina por la comparación que el lote es bueno entonces los datos para ese lote se añadirán a una anchura de impulso media acumulativa almacenada, mientras que si la comparación muestra discrepancias por el valor predeterminado que son demasiado grandes el aparato puede rechazar los datos para ese lote y detectar así un bloqueo parcial o completo del orificio, en el que el valor de anchura de impulso predeterminado es la anchura de impulso media acumulativa.

2. Aparato según la reivindicación 1, en el que el medio de monitorización monitoriza el valor de línea de base medio de la señal para determinar si se produce una desviación significativa en el valor de línea de base medio lo cual es indicativo de un bloqueo parcial o completo del orificio.

3. Aparato según las reivindicaciones 1 ó 2 en el que el medio de monitorización compara la altura de un impulso de señal individual con un valor conocido que corresponde a un tamaño de partícula del orden de o mayor que un tamaño predeterminado, como el diámetro del orificio.

4. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el medio de monitorización comprende un detector de impulso de saturación o de onda cuadrada.

5. Aparato según la reivindicación 4 en el que el detector de onda cuadrada compara el tiempo durante el cual una señal de impulso pasa por un valor predeterminado primero y segundo y entonces vuelve atrás por los valores primero y segundo predeterminados.

6. Aparato según la reivindicación 4 ó 5 en el que el detector de onda cuadrada está dispuesto para detectar una curva de recuperación característica.

7. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que el medio de monitorización mide la tasa de aparición de impulsos de señal y compara esta tasa con una tasa predeterminada.

8. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el medio de monitorización analiza el ruido de fondo de la señal para una varia-

ción predeterminada, como la variación de amplitud dentro de un intervalo de frecuencia.

9. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el medio de detección comprende un detector de corriente del orificio para determinar el flujo de corriente eléctrica entre los electrodos haciendo posible así que el medio de monitorización compare la corriente del orificio con los valores predeterminados.

10. Aparato según la reivindicación 9 en el que el medio de detección compara el valor de corriente del orificio antes o después de medir una señal o la media de las dos con un valor inicial medido antes de la medición de la señal.

11. Aparato según la reivindicación 9 ó 10 en el que el medio de detección determina si la diferencia entre el valor de corriente del orificio y el valor que se ha comparado también es mayor que un aumento del 10% o un decremento del 5%.

12. Aparato según la reivindicación 11 en el que la detección determina si la diferencia es mayor del 20%.

13. Aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 en el que el medio de medición comprende un detector de 14 bits, o un convertidor analógico a digital que tiene una resolución de 14 bits.

14. Aparato según cualquier reivindicación precedente que comprende un medio para aplicar una señal de calibración a uno de los electrodos y un medio para monitorizar la señal a través de ambos electrodos, estando el medio de monitorización adaptado para comparar la señal de calibración detectada con una señal predeterminada.

15. Aparato según la reivindicación 14 en el que la señal de calibración comprende una serie de impulsos.

16. Aparato según la reivindicación 14 ó 15 que está configurado de tal modo que sólo se proporciona una alarma a un usuario después de que la señal de calibración se haya repetido un número de veces predeterminado para intentar obtener un resultado aceptable con la señal predeterminada.

17. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende un medio para desbloquear el orificio extrayendo una partícula contenida al menos momentáneamente dentro del orificio.

18. Aparato según la reivindicación 17 en el que el medio de desbloqueo crea de forma operable vibraciones ultrasónicas en el fluido en la región del orificio.

19. Aparato según la reivindicación 17 ó 18 en el que el medio de desbloqueo puede aplicar una serie de impulsos eléctricos a uno del par de electrodos.

20. Aparato según la reivindicación 19, en el que la frecuencia de impulso es mayor de 5 kHz.

21. Aparato según la reivindicación 20, en el que la frecuencia de impulso es mayor de 10 kHz.

22. Aparato según la reivindicación 19, en el que la frecuencia de impulso está en el intervalo de 10 kHz a 15 kHz.

23. Aparato según la reivindicación 21, en el que la frecuencia de impulso es de hasta 20 kHz aproximadamente.

24. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23 en el que el reductor de flujo comprende material que manifiesta el efecto piezoeléctrico.

25. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 24 en el que el medio de desbloqueo com-

prende un medio de propulsión de fluido para efectuar el flujo de fluido en el reductor de flujo.

26. Aparato según la reivindicación 25 en el que el medio de propulsión de fluido dirige fluido sustancialmente en la dirección inversa al flujo de fluido durante las mediciones de señales.

27. Aparato según la reivindicación 25 o 26 que comprende además un medio dentro de la cámara para dirigir fluido desde el medio de propulsión de fluido hacia el reductor de flujo.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

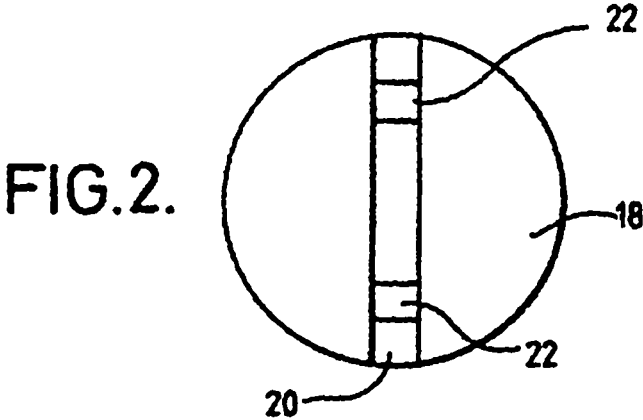
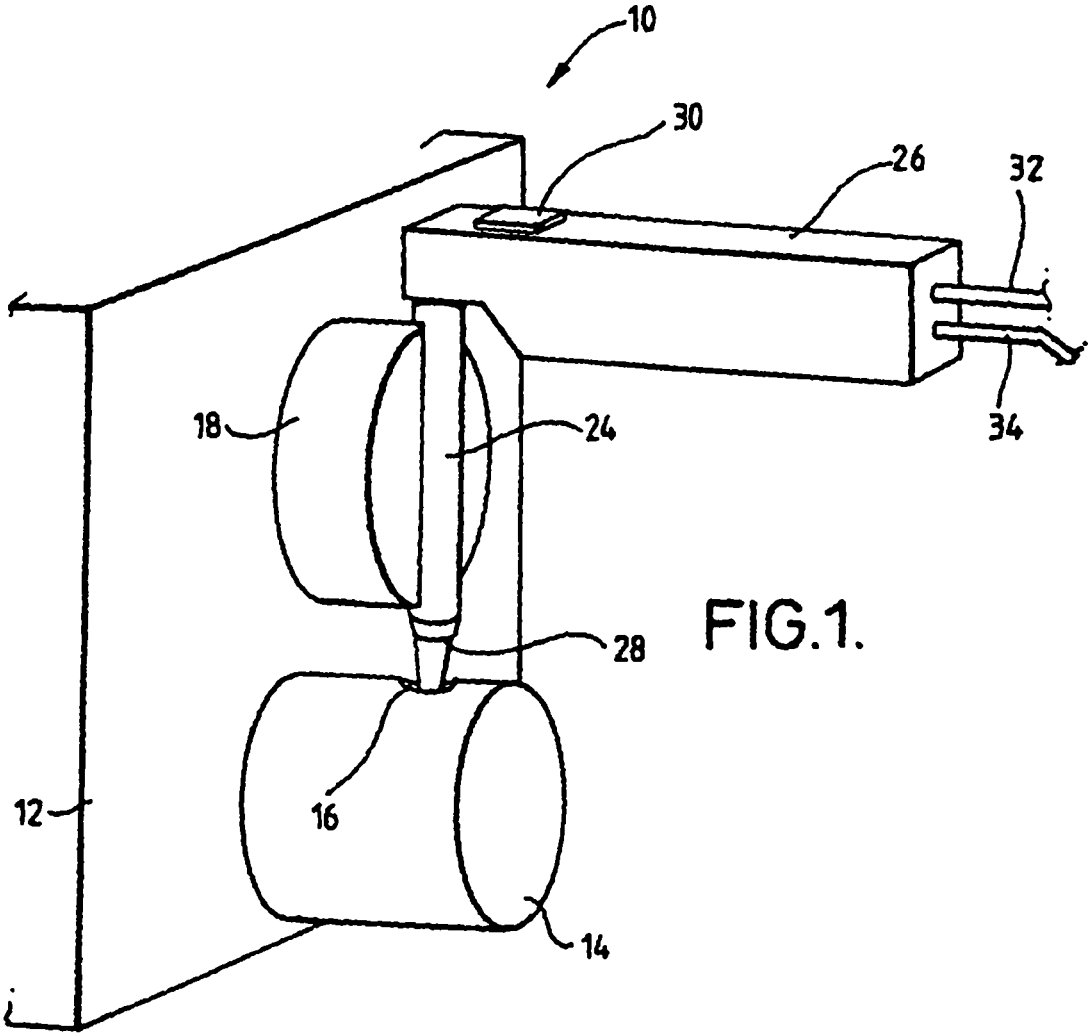
50

55

60

65

28. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 19 a 27 en el que el medio de desbloqueo es accionado periódicamente, por ejemplo después de un tiempo predeterminado, después de un número de mediciones de señales, o donde las mediciones de señales periódicas son almacenadas temporalmente en una memoria transitoria, después de cada periodo de mediciones, comprendiendo el aparato de este modo un medio para accionar periódicamente el medio de desbloqueo.



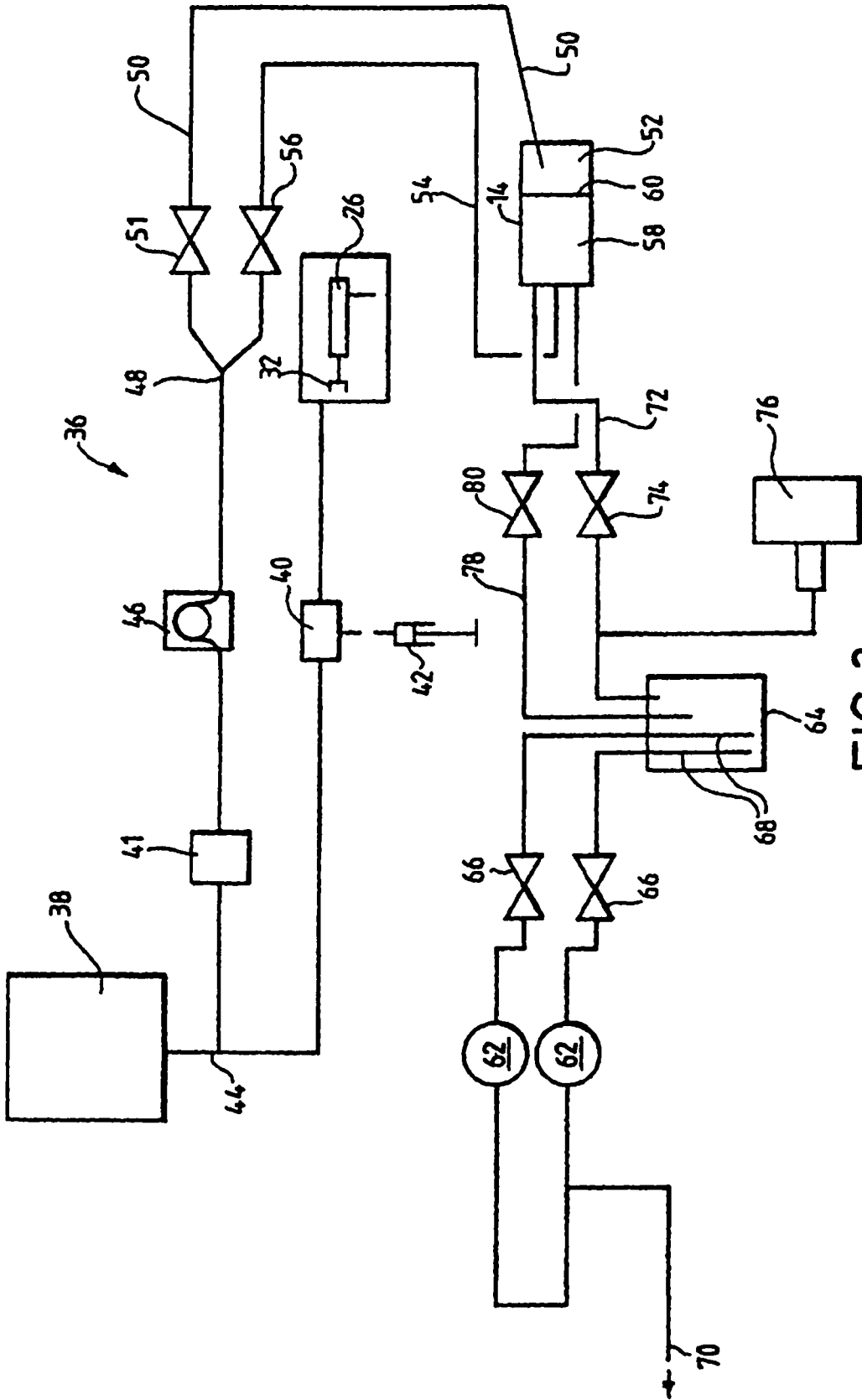


FIG. 3.

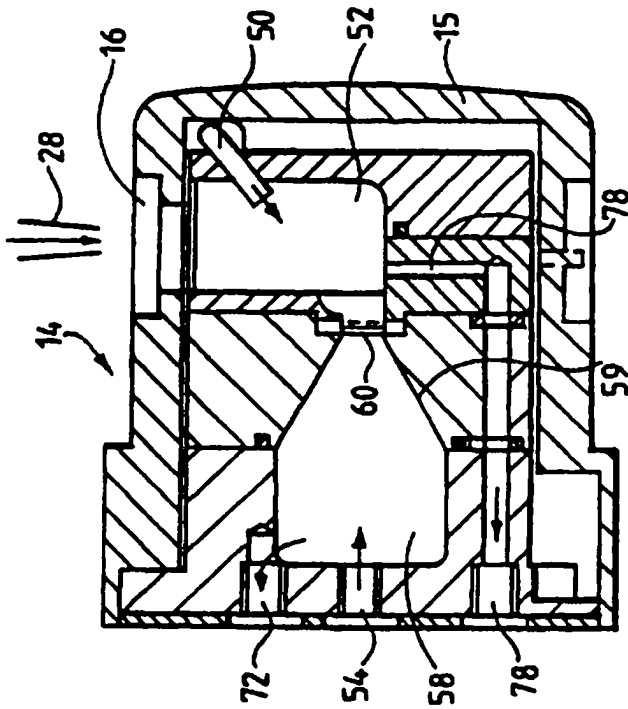


FIG. 4.

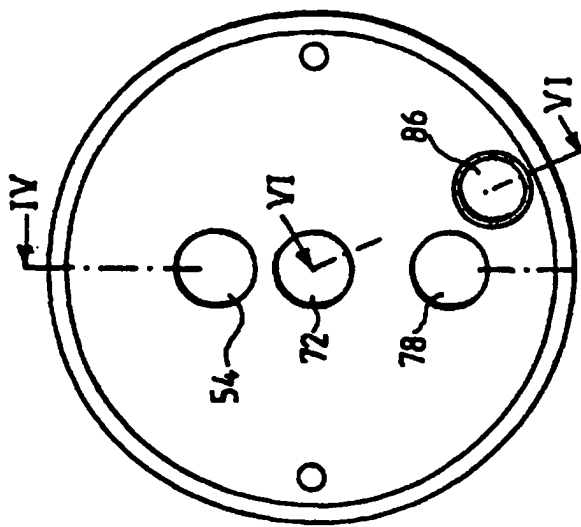


FIG. 5.

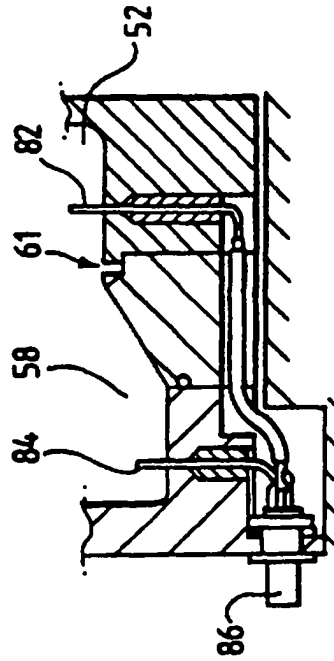
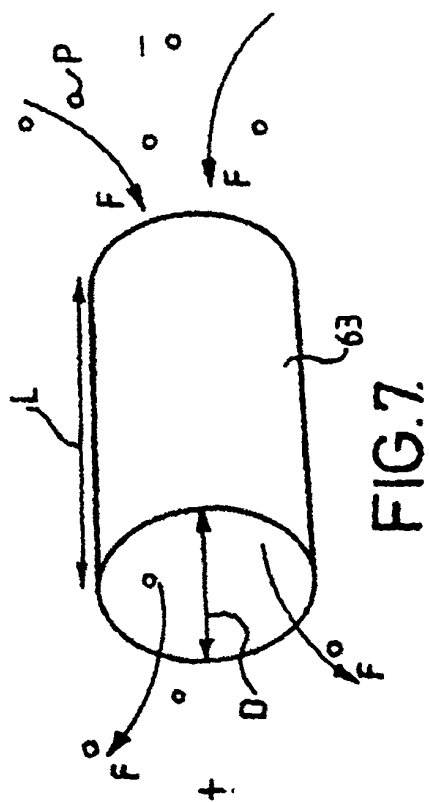
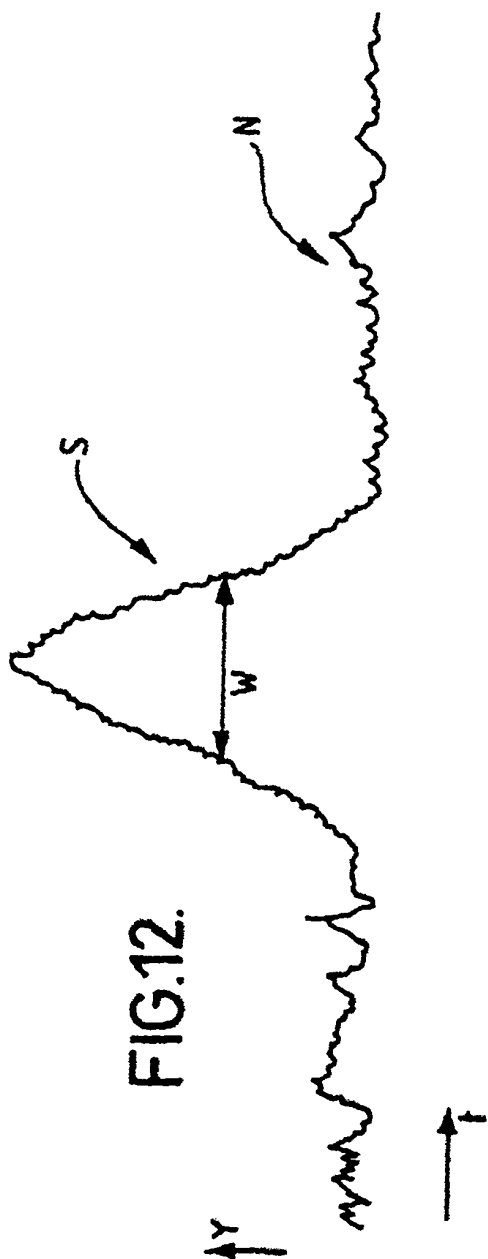


FIG. 6.



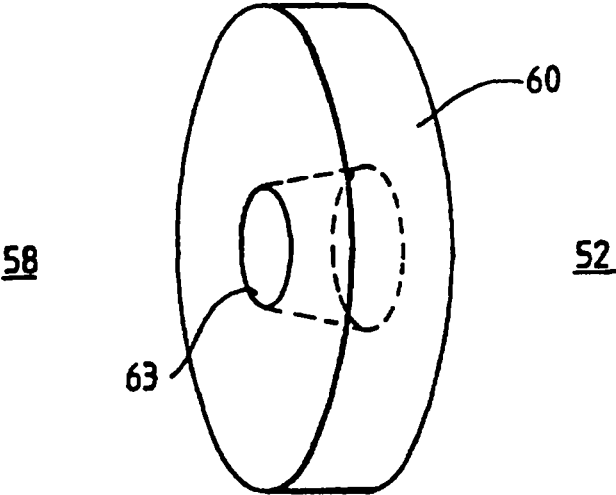


FIG. 8.

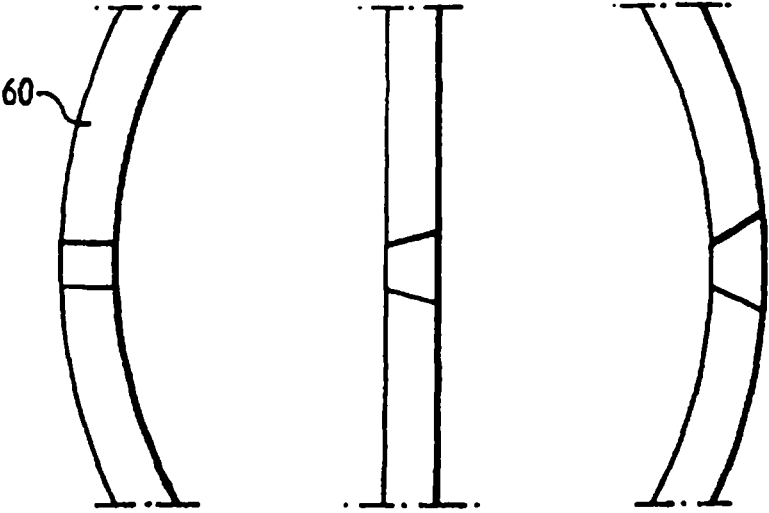


FIG. 9(a) FIG. 9(b) FIG. 9(c)

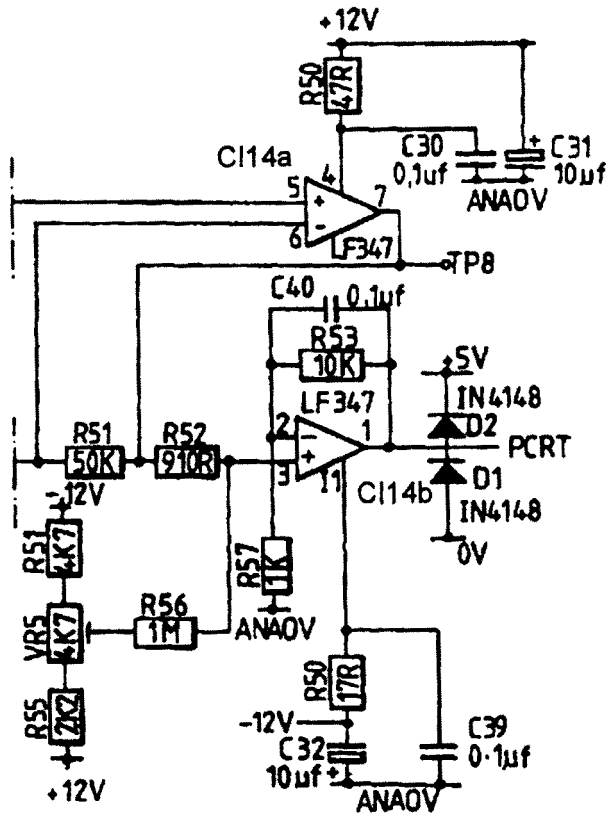
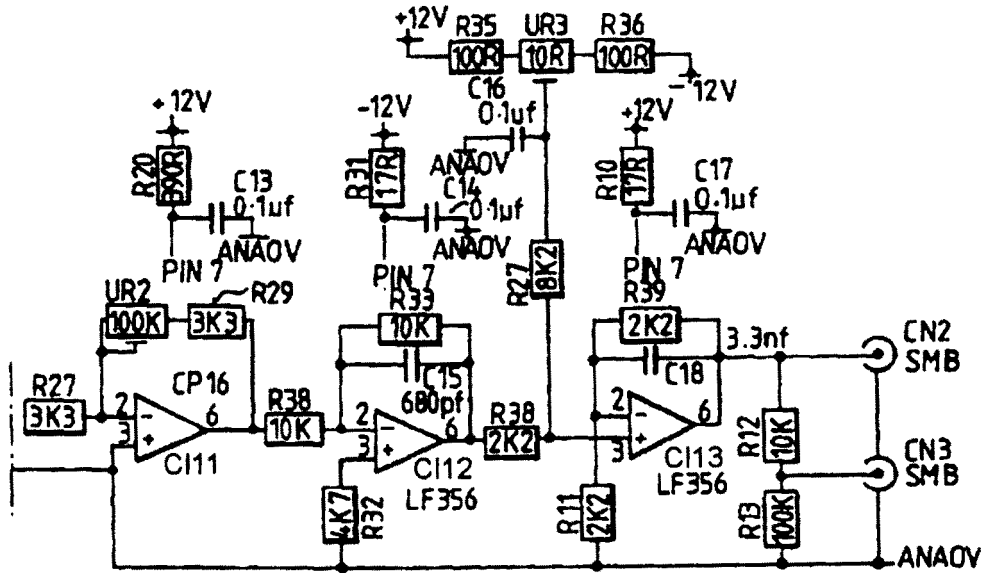


FIG.11b.