

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 988 009**

51 Int. Cl.:

<b>G01N 21/01</b>	(2006.01)	<b>G01N 21/31</b>	(2006.01)
<b>G01N 21/17</b>	(2006.01)	<b>G01N 21/49</b>	(2006.01)
<b>G01N 15/05</b>	(2006.01)	<b>G01N 21/21</b>	(2006.01)
<b>A61B 5/145</b>	(2006.01)	<b>G01N 21/359</b>	(2014.01)
<b>G01J 3/02</b>	(2006.01)	<b>A61B 5/1455</b>	(2006.01)
<b>G01J 3/10</b>	(2006.01)	<b>G01N 33/49</b>	(2006.01)
<b>G01J 3/14</b>	(2006.01)	<b>G01J 3/18</b>	(2006.01)
<b>G01J 3/42</b>	(2006.01)		
<b>G01N 21/03</b>	(2006.01)		
<b>G01N 21/27</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.02.2016** **E 22174601 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2024** **EP 4067868**

54 Título: **Un módulo de luz de calibración**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.11.2024**

73 Titular/es:

**NOVA BIOMEDICAL CORPORATION (100.0%)**  
**200 Prospect Street**  
**Waltham, MA 02454, US**

72 Inventor/es:

**CAFFERTY, MICHAEL y**  
**CIONEK, SCOTT P.**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 988 009 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

Un módulo de luz de calibración

## 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

La presente descripción se refiere, en general, a sistemas y procedimientos espectroscópicos para la identificación y caracterización de parámetros de hemoglobina en sangre y, en particular, a un módulo de muestras ópticas para su uso en un sistema para medir parámetros de hemoglobina en sangre completa o parámetros de bilirrubina en sangre completa.

Descripción de la Técnica Anterior

15 Un sistema espectroscópico de luz ultravioleta-visible implica la espectroscopía de absorción o la espectroscopía de reflectancia. Como su nombre lo indica, estos sistemas utilizan la luz en el intervalo visible y el de ultravioleta cercano para analizar una muestra. Típicamente, el intervalo de longitud de onda es de alrededor de 400 nm a alrededor de 700 nm. La absorción o reflectancia de la luz visible afecta directamente el color que se percibe en los productos químicos involucrados. La espectroscopía de UV/Vis se utiliza de manera rutinaria en la química analítica para la determinación cuantitativa de diferentes analitos, tales como los iones de metales de transición, los compuestos orgánicos altamente conjugados y las macromoléculas biológicas. El análisis espectroscópico se lleva a cabo comúnmente en soluciones, pero también se pueden estudiar sólidos y gases.

25 Un sistema espectroscópico de infrarrojo cercano también implica la espectroscopía de absorción o la espectroscopía de reflectancia. Dichos sistemas usan luz en el intervalo del infrarrojo cercano para analizar una muestra. El intervalo de longitud de onda es típicamente de aproximadamente 700 nm a menos de 2.500 nm. Las aplicaciones típicas incluyen productos farmacéuticos, diagnósticos médicos (incluidos el azúcar en la sangre y la oximetría de pulso), el control de calidad de alimentos y agroquímicos y la investigación de la combustión, así como también la investigación de la neuroimagen funcional, la medicina y las ciencias deportivas, el entrenamiento deportivo de élite, la ergonomía, la rehabilitación, la investigación neonatal, la interfaz cerebro-computadora, la urología (contracción de la vejiga) y la neurología (acoplamiento neurovascular).

35 La instrumentación para la espectroscopía de IR cercano (Near Infrared, NIR) es similar a los instrumentos para los intervalos de UV-visible e IR medio. Las partes básicas de un espectrofotómetro son una fuente de luz, un soporte para la muestra, una rejilla de difracción en un monocromador o un prisma para separar las diferentes longitudes de onda de la luz y un detector. La fuente de radiación es a menudo un filamento de tungsteno (300-2500 nm), una lámpara de arco de deuterio, que es continua en la región ultravioleta (190-400 nm), una lámpara de arco de xenón, que es continua de 160-2.000 nm, o más recientemente, diodos emisores de luz (Light-Emitting Diodes, LED) para las longitudes de onda visibles. El detector es típicamente un tubo fotomultiplicador, un fotodiodo, una matriz de fotodiodos o un dispositivo de carga acoplada (Charge-Coupled Device, CCD). Los detectores de un solo fotodiodo y los tubos fotomultiplicadores se utilizan con monocromadores de barrido, que filtran la luz para que solo la luz de una sola longitud de onda llegue al detector a la vez. El monocromador de barrido mueve la rejilla de difracción a "paso a paso" para cada longitud de onda, a fin de poder medir la intensidad según la longitud de onda. Los monocromadores fijos se utilizan con CCD y matrices de fotodiodos. Como ambos dispositivos consisten en muchos detectores agrupados en matrices unidimensionales o bidimensionales, son capaces de recoger luz de diferentes longitudes de onda en diferentes píxeles o grupos de píxeles simultáneamente. Las bombillas halógenas incandescentes o de cuarzo comunes se utilizan con mayor frecuencia como fuentes de banda ancha de radiación infrarroja cercana para aplicaciones analíticas. También se utilizan diodos emisores de luz (LED). El tipo de detector utilizado depende principalmente del intervalo de longitudes de onda a medir.

La aplicación primaria de la espectroscopía NIR al cuerpo humano utiliza el hecho de que la transmisión y absorción de la luz de NIR en los tejidos del cuerpo humano contiene información sobre los cambios en la concentración de hemoglobina. Mediante el empleo de varias longitudes de onda y procedimientos resueltos en el tiempo (dominio de frecuencia o tiempo) y/o procedimientos resueltos espacialmente, se puede cuantificar el flujo sanguíneo, el volumen y la saturación tisular absoluta (StOz o Tissue Saturation Index, TSI). Las aplicaciones de la oximetría mediante procedimientos de NIRS incluyen la neurociencia, la ergonomía, la rehabilitación, la interfaz cerebro-computadora, la urología, la detección de enfermedades que afectan la circulación sanguínea (por ejemplo, la enfermedad vascular periférica), la detección y evaluación de tumores de mama y la optimización de la formación en medicina deportiva.

60 Con respecto a la espectroscopía de absorción, la Ley de Beer-Lambert establece que la absorbancia de una solución

es directamente proporcional a la concentración de las especies absorbentes en la solución y a la longitud de la trayectoria. Por consiguiente, para una longitud de trayectoria fija, se puede usar la espectroscopía de UV/Vis y de NIR para determinar la concentración del absorbente en una solución. El procedimiento se usa con mayor frecuencia de manera cuantitativa para determinar las concentraciones de una especie absorbente en solución, mediante el uso de la Ley de Beer-Lambert:

$$A = \log_{10}(I_0/I) = \epsilon c l$$

- donde  $A$  es la absorbancia medida, en unidades de absorbancia (**UA**),  
 10  $I_0$  es la intensidad de la luz incidente a una longitud de onda dada,  
 $I$  es la intensidad transmitida,  
 $l$  la longitud de la trayectoria a través de la muestra, y  
 $c$  la concentración de la especie absorbente.
- 15 Para cada especie y longitud de onda,  $\epsilon$  es una constante conocida como absortividad molar o coeficiente de extinción. Esta constante es una propiedad molecular fundamental en un disolvente dado, a una temperatura y presión particulares, y tiene unidades de  $1/M \cdot \text{cm}$  o a menudo  $\text{UA}/M \cdot \text{cm}$ . La absorbancia y la extinción  $\epsilon$  a veces se definen en términos del logaritmo natural, en lugar del logaritmo de base 10.
- 20 La Ley de Beer-Lambert es útil para caracterizar muchos compuestos, pero no se mantiene como una relación universal para la concentración y absorción de todas las sustancias.
- Los expertos en la materia reconocen que diversos factores afectan a estos sistemas espectroscópicos. Estos factores incluyen el ancho de banda espectral, el error de longitud de onda, la luz parásita, las desviaciones de la Ley de Beer-  
 25 Lambert y las fuentes de incertidumbre de medición.
- La luz parásita es un factor importante que afecta a los sistemas espectroscópicos. La luz parásita hace que un instrumento informe una absorbancia incorrectamente baja.
- 30 Las desviaciones de la Ley de Beer-Lambert surgen según las concentraciones. A concentraciones suficientemente altas, las bandas de absorción se saturarán y mostrarán un aplanamiento de la absorción. El pico de absorción parece aplanarse porque cerca del 100 % de la luz ya se está absorbiendo. La concentración a la que esto se produce depende del compuesto particular que se mide.
- 35 La incertidumbre de medición surge en el análisis químico cuantitativo donde los resultados resultan afectados adicionalmente por las fuentes de incertidumbre de la naturaleza de los compuestos y/o soluciones que se miden. Estos incluyen interferencias espectrales como consecuencia de la superposición de la banda de absorción, el desvanecimiento del color de la especie absorbente (causado por la descomposición o la reacción) y el posible desajuste de la composición entre la muestra y la solución de calibración.
- 40 El documento de patente estadounidense n.º 4.172.663 describe un medidor de longitud de onda óptica, en particular un medidor de longitud de onda de interferencia, para medir la luz y, más específicamente, un medidor de longitud de onda de interferencia que tiene una resolución aumentada y es capaz de medir la longitud de onda de una fuente de láser pulsado.
- 45 El documento US 2010/073666 describe un sistema de análisis óptico que comprende una luz de calibración que proporciona luz de calibración, una lente de colimación, un primer espejo, una carcasa, un divisor de haz, detectores y un recipiente donde una rueda de corte refleja alternativamente la luz desde la fuente a los detectores para proporcionar una medición de calibración y transmite alternativamente luz al divisor de haz para su reflexión en el  
 50 recipiente y posteriormente para su retrorreflexión en los detectores.

## RESUMEN DE LA INVENCION

Se sabe que la hemoglobina humana (Hgb) es una proteína que transporta oxígeno en los eritrocitos. La determinación de su concentración en sangre total es una herramienta diagnóstica útil e importante en la bioquímica clínica. Los analizadores de COOx se utilizan para medir los parámetros de hemoglobina de la sangre, como la hemoglobina total (tHb), la carboxihemoglobina (COHb), la desoxihemoglobina (HHb), la oxihemoglobina (O2Hb), la metahemoglobina (MetHb) y la hemoglobina fetal (FHb), así como la bilirrubina total (tBil) a través de mediciones de absorbancia óptica. En la práctica, los analizadores de COOx típicos usan sangre lisada en lugar de sangre completa debido a los  
 60 problemas que presenta el análisis espectrométrico de la sangre completa. La medición de la sangre lisada es

relativamente sencilla, ya que el procedimiento de lisado disuelve los glóbulos rojos y convierte la sangre en un medio casi no difusor. La absorbancia se mide con un haz colimado simple a través de la cubeta con poca pérdida de luz debido a la dispersión. Como consecuencia de la baja pérdida de luz debido a la dispersión, se puede usar un análisis lineal simple para encontrar los parámetros de hemoglobina y bilirrubina total. La medición de los parámetros de hemoglobina y bilirrubina total usando una muestra de sangre completa es muy complicada debido a la fuerte dispersión óptica de la sangre completa. Estos problemas se relacionan principalmente con el manejo del aumento del nivel de dispersión de la luz de la sangre completa en comparación con la sangre lisada. Esto introduce pérdida de luz y absorbancia no lineal en la medición.

10 Los componentes de un espectrómetro basado en prismas tienen naturalmente un perfil bajo de luz parásita. El principal factor que contribuye al rendimiento de la luz parásita está relacionado con la forma en que se utilizan los componentes.

Aunque los problemas se relacionan principalmente con el manejo del aumento del nivel de dispersión de la luz de la sangre completa, no es un solo factor que, de resolverse, sea capaz de resolver estos difíciles problemas. Los inventores han identificado varios factores que se deben abordar para medir los parámetros de hemoglobina en sangre completa. Debido a que la sangre completa es un medio muy difuso, es necesario recoger la mayor cantidad de luz posible para reducir el requisito de un intervalo de medición de absorbancia superior. También es necesario expandir el límite superior de la absorbancia medida debido al intervalo inferior de corrección de linealidad del detector. Los efectos de sedimentación de la sangre son otro problema que conduce a una mala correlación de la absorbancia de las exploraciones de sangre completa con la absorbancia de los barridos de sangre lisada. Básicamente, las células sanguíneas forman grumos o rouleaux. También se debe aumentar el brillo de la fuente de luz blanca LED. Por último, se necesitan nuevos algoritmos distintos de los algoritmos de base lineal para superar los efectos de dispersión de la luz de la sangre completa.

25 Las ópticas de recolección típicas para sistemas que usan sangre lisada están diseñadas para recoger luz de la cubeta en un cono de alrededor de  $\pm 0,7$  grados de ancho y tienen un límite de absorbancia de medida superior de 1,5 UA (unidades de absorbancia). Los inventores descubrieron que, para la sangre completa, el sistema necesita recoger luz de la cubeta en un cono de aproximadamente  $\pm 12$  grados y que el límite de absorbancia superior tenía que aumentar a aproximadamente 3,5 UA. En cuanto a los efectos de sedimentación de la sangre, en el tiempo típico que se tarda en medir el espectro de absorbancia (aproximadamente 1 minuto), la sangre completa en la cubeta se sedimenta y las células sanguíneas forman grumos o rouleaux. En consecuencia, los efectos de dispersión y la absorbancia cambian con el tiempo. Los inventores descubrieron que cambiar el control del espectrómetro para recopilar múltiples barridos con frecuencia en lugar de unos pocos barridos promediados durante un período más largo impidió las funciones de la etapa en el barrido de absorbancia compuesto, que se une a partir de barridos de varios tiempos de integración. Desafortunadamente, la adición de más barridos para expandir el límite superior de absorbancia aumenta el tiempo de recopilación de datos. Para resolver este dilema, el tiempo de integración se redujo de 5 mseg a 1,2 mseg a fin de reducir el tiempo de recopilación de datos. Sin embargo, se descubrió que esto solo funciona si el nivel de luz aumenta en un factor correspondiente. Por consiguiente, se debe aumentar el brillo de la luz blanca del LED.

40 La medición de la absorbancia óptica de una muestra difusa, tal como la sangre completa, presenta un problema único. La transmitancia difusa de la muestra de sangre completa distorsiona la distribución de luz espacial inicial del sistema de medición como resultado de la falta de uniformidad típica de las fuentes de luz. Por consiguiente, la distribución espacial de la luz del barrido "en blanco" puede ser muy diferente del barrido de muestras de sangre completa. Como los detectores ópticos tienen una respuesta que varía espacialmente, la respuesta puede variar debido a los cambios en la distribución espacial de la luz incidente, incluso si la intensidad general no ha cambiado. Un barrido de absorbancia que se basa en la relación del barrido de la muestra de sangre completa respecto al barrido en blanco tendrá un componente de absorbancia significativo debido a esta falta de uniformidad de la fuente de luz, además de la absorbancia debido a la muestra por sí sola. Esto da lugar a un error de medición significativo de la absorbancia de la muestra de sangre completa que es intolerable para la cooximetría.

Se descubrió que, al colocar la cubeta de muestras entre los difusores, la distribución espacial de la luz parece la misma para los barridos en blanco y de muestras, eliminando, por consiguiente, este efecto de error. Los difusores se eligen especialmente para que difundan un rayo de luz incidente en el cono de aceptación total del sistema óptico, pero no más, de modo tal que se pueda preservar la mayor cantidad de rendimiento de luz posible mientras se mezcla el rayo completamente a través del campo.

Además, la medición de los parámetros de hemoglobina fetal presenta problemas adicionales. Estos incluyen los tiempos de adquisición espectral, que deben ser más rápidos. En lugar de los típicos 12 segundos, deben ser 5 segundos o menos. El tiempo de adquisición espectral incluye el tiempo de integración multiplicado por el número de espectros co-añadidos y el tiempo de procesamiento para producir un espectro (luz completa, oscuro o muestra) que

cumpla con todos los siguientes requisitos. La precisión absoluta de la longitud de onda debe ser menor; menos de +0,03/-0,03 nm en comparación con +0,1/-0,0 nm. El mantenimiento de la calibración de la longitud de onda (menos de +0,06/-0,0 nm frente a +0,1/-0,0 nm), la deriva de la calibración de la longitud de onda (menos de 0,024 nm/°C en comparación con 0,04 nm/°C), el nivel de corriente oscura (menos del 0,06 %/°C para el intervalo dinámico máximo frente al 0,1 %/°C del intervalo dinámico máximo), la no linealidad de la respuesta (menos del 0,06 % después de la corrección y menos del 1,2 % para el 10 % más bajo y más alto del intervalo dinámico en comparación con el 0,1 % después de la corrección y el 2,0 % para el 10 % más bajo y más alto del intervalo dinámico), el nivel de luz dispersa (menos del 0,02 % del intervalo dinámico máximo para la matriz de detectores completamente iluminada frente al 0,1 % del intervalo dinámico máximo para la matriz de detectores completamente iluminada), la deriva térmica de la respuesta (máximo de cambio de intensidad del 6 % y máximo de inclinación del 6 % sobre el intervalo espectral en comparación con el máximo de cambio de intensidad del 10 % y máximo de inclinación del 10 % sobre el intervalo espectral) y la excursión de temperatura permitida durante la medición (menos de 0,5 °C en comparación con 2 °C) deben ser todos menores.

- 15 Los espectrómetros compactos y de bajo costo disponibles en el mercado suelen utilizar rejillas de difracción (reflectantes o transmisivas) para dispersar la entrada de luz. Las rejillas de difracción dan un alto grado de dispersión en un volumen pequeño y producen un ancho de banda (o resolución) relativamente constante frente a la longitud de onda preferida por el usuario típico. Las rejillas, sin embargo, sufren de alta luz parásita debido a múltiples órdenes de difracción y también a las imperfecciones inherentes a las líneas que se graban para producir la superficie de la rejilla.
- 20 Por consiguiente, las rejillas holográficas maestras producidas en masa pero caras se emplean típicamente en aplicaciones que requieren poca luz parásita, en lugar de las rejillas replicadas más comúnmente disponibles.

El requisito de poca luz parásita para los analizadores de COOx limita la población de fabricantes de rejillas adecuados a los varios en el mundo que producen rejillas holográficas maestras o rejillas fotograbadas de precisión individual.

25 Esto dificulta la obtención de rejillas de alto rendimiento y bajo costo en cantidad.

Los prismas también se utilizan para hacer espectrómetros. Los prismas no tienen problemas con múltiples órdenes de difracción y sus superficies tienen órdenes de magnitud menos imperfecciones que la superficie de una rejilla. Los componentes de un espectrómetro basado en prismas tienen naturalmente un perfil bajo de luz parásita. Por consiguiente, la luz parásita en un espectrómetro de prisma puede ser potencialmente menor en un orden de magnitud o más en comparación con un espectrómetro de rejilla de diseño similar. El factor principal que contribuye al rendimiento de la luz parásita surge de la forma en que se utilizan los componentes. Hay tres fuentes principales de luz parásita. Estos incluyen (1) sobrellenado de la abertura numérica del espectrómetro, (2) retrorreflexión del detector de matriz de luz y (3) la imagen del plano focal. La luz en exceso de la requerida para iluminar completamente la apertura numérica del espectrómetro puede rebotar en el espectrómetro y aterrizar en el detector. En la presente invención, la apertura numérica de la fibra óptica es 0,22 y la apertura numérica del espectrómetro de prisma es 0,1. Un tope situado sobre la entrada de fibra óptica restringe el cono de entrada de luz de la fibra óptica para impedir el exceso de entrada de luz. El detector de matriz de luz no absorbe toda la luz que incide sobre él, sino que refleja hacia atrás una porción. Esta retrorreflexión debe controlarse para que caiga en una superficie absorbente o trampa de haz para impedir que se disperse sobre el detector. Impartir una ligera inclinación del detector de matriz de luz hace que la retrorreflexión regrese en una dirección inofensiva. La imagen de la hendidura en el plano focal del detector debe ser lo más nítida posible. Cualquier sobrellenado excesivo del detector debido al desenfoque puede ser una fuente potencial de luz parásita. Si esta luz golpea las estructuras del detector, como los hilos de unión, las almohadillas de metalización, etc., puede rebotar en la superficie sensible del detector.

45 Además, un espectrómetro de prisma extiende el extremo azul del espectro sobre más píxeles que un espectrómetro de rejilla de difracción y, por consiguiente, el extremo azul del espectro da una señal más baja por píxel. Para compensar la señal más baja por píxel, se utiliza un LED con mayor energía azul o un LED blanco frío. La señal en el azul se puede aumentar aún más añadiendo un vidrio de filtro económico después del LED que atenúa ligeramente el extremo rojo. El vidrio de filtro Kopp tipo 4309, de aproximadamente 3 mm de espesor, es útil para este propósito. La principal desventaja de los prismas es la menor energía de dispersión que tienen en comparación con una rejilla y la variación de la resolución con la longitud de onda. En la presente invención, cuando se utiliza un prisma, la primera desventaja se mitiga mediante el uso de un detector de matriz de luz lo suficientemente pequeño; este último se mitiga porque el análisis de sangre completa no requiere una resolución uniformemente pequeña a través de la banda de

50 onda de interés.

Los espectrómetros actualmente disponibles generalmente enumeran una resolución uniforme de 1 nm para la región espectral de medición de sangre de 455-660 nm. En la presente invención, la región espectral se expande y cubre la región espectral de 422-695 nm. Además, la resolución se cambia selectivamente hacia arriba en regiones donde no se requiere baja resolución (como la región de 600-695 nm y la región de 422-455 nm). En la presente invención, estas regiones tienen una resolución mayor que 1 nm. Típicamente, la resolución es de aproximadamente 3,0 a

aproximadamente 3,5 nm. Estos intervalos se utilizan para capturar picos de calibración de longitud de onda adicionales para la calibración de longitud de onda y la detección de fluidos. La región espectral más grande de la presente invención requiere la consideración del espectro disperso del prisma. El espectro disperso debe extenderse sobre el detector de matriz de luz y cubrir suficientes píxeles para muestrear el espectro con una resolución lo suficientemente fina, pero no tanto como para extenderse fuera de la matriz del detector. Debido al intervalo espectral más amplio, la presente invención incorpora un detector de matriz de luz que tiene 1024 píxeles con una longitud de área activa de aproximadamente 8,0 mm.

Un diseño de referencia de piezas mínimas para un espectrómetro de dispersión óptica requiere solo dos componentes ópticos: un elemento dispersor de luz (es decir, prisma o rejilla) y una lente doblete (acromática). El prisma/rejilla tiene un recubrimiento reflectante en la base. Un ejemplo de un prisma aceptable es un prisma Littrow. El prisma Littrow tiene una estructura tal que se puede utilizar para un espectrómetro compacto y de bajo costo de la presente invención. El material del prisma (característica de dispersión) y la longitud focal de la lente son consideraciones adicionales. Aunque se pueden utilizar otros prismas y lentes acromáticos, una realización de la presente invención incorpora un prisma de vidrio Schott F5 y una lente de longitud focal de 80 mm. Esta combinación particular proporciona una longitud de dispersión del espectro de aproximadamente 6,48 mm. Esta longitud de dispersión deja aproximadamente 0,75 mm en cada extremo del detector de matriz de luz disponible para variaciones de tolerancia y píxeles de corrección de oscuridad.

Se debe considerar la deriva térmica de la respuesta espectral. Es fundamental que la respuesta espectral del espectrómetro se mantenga dentro de un cierto intervalo entre los barridos de luz completa y de sangre completa. Cualquier cambio en la respuesta del espectrómetro causará errores de absorbancia. La principal precaución contra este daño es asegurarse de que la imagen de la hendidura sobrellene los píxeles para que la deriva de la imagen debido a la temperatura no provoque una reducción de la luz en el píxel del detector. La imagen 1:1 del sistema combinada con una fibra óptica de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro sobrellena los píxeles de 125  $\mu\text{m}$  de altura. Siempre que la deriva de la imagen se limite a menos de aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  de movimiento en cualquier dirección a lo largo del detector durante un intervalo de medición, la deriva térmica no es un problema. La presente invención también contempla diversos mecanismos para minimizar los efectos de la deriva térmica en la respuesta espectral. Estos mecanismos incluyen aislar la carcasa del espectrómetro para minimizar los cambios de temperatura externos a la carcasa del espectrómetro, mantener la temperatura dentro de la carcasa del espectrómetro utilizando una fuente de calor de temperatura controlada y/o incorporar una montura de la lente de compensación de temperatura para la lente acromática.

A continuación se analizará el procedimiento que transforma las señales eléctricas del espectrómetro. En primer lugar, se mide la absorbancia, que es menos el logaritmo en base diez de la relación de la señal eléctrica recibida cuando la muestra de sangre está en la cubeta respecto a la señal eléctrica recibida cuando un fluido transparente está en la cubeta. En segundo lugar, los valores de absorbancia en cada longitud de onda se ponen en una función de mapeo que mapea los valores de absorbancia a los niveles de analito (parámetros COOx y bilirrubina) en la muestra de sangre completa. La función de mapeo y sus coeficientes se establecen mediante el uso de los valores de absorbancia medidos para muestras de sangre completa con valores de analito conocidos, y el establecimiento de la relación entre estos valores de absorbancia y los valores de analito conocidos.

La presente invención logra estos y otros objetivos al proporcionar un módulo de muestras ópticas para su uso en un subsistema de analizador COOx compacto y de bajo costo.

El grupo de muestras ópticas comprende las características según la reivindicación 1. Además, en las reivindicaciones dependientes, se definen características opcionales.

En una realización de la presente invención, el grupo de muestras ópticas se puede usar en un sistema para medir parámetros de hemoglobina de sangre completa que incluye (a) un módulo de muestras ópticas que tiene un módulo emisor de luz, un conjunto de cubeta reemplazable y un módulo de luz de calibración, (b) una fibra óptica, (c) un módulo de espectrómetro y (d) un módulo de procesador. El módulo emisor de luz tiene una fuente de luz LED capaz de emitir luz donde la luz se dirige a lo largo de una trayectoria óptica. El conjunto de cubeta está adyacente al módulo emisor de luz donde el conjunto de cubeta está adaptado para recibir una muestra de sangre completa y tiene una cámara de recepción de muestras con una primera ventana de la cubeta y una segunda ventana de la cubeta alineadas entre sí. La cámara de recepción de muestras está dispuesta en la trayectoria óptica para recibir luz de la fuente de luz LED y tiene una longitud de trayectoria óptica definida entre la primera ventana de la cubeta y la segunda ventana de la cubeta junto con un chip electrónico capaz de almacenar un valor de longitud de trayectoria de la cámara de recepción de muestras. El módulo de luz de calibración tiene una fuente de luz de calibración con una o más longitudes de onda de luz conocidas donde el módulo de luz de calibración es capaz de emitir una luz de calibración en la trayectoria óptica. La fibra óptica tiene un extremo receptor de luz y un extremo emisor de luz. El extremo receptor de

luz se conecta ópticamente al módulo de muestras ópticas donde el extremo receptor de luz recibe la luz de la trayectoria óptica y conduce la luz al extremo emisor de luz. El módulo del espectrómetro recibe la luz del extremo emisor de luz de la fibra óptica, separa la luz en una pluralidad de haces de luz donde cada haz de luz tiene una longitud de onda diferente y convierte la pluralidad de haces de luz en una señal eléctrica. El módulo procesador (1) obtiene el valor de longitud de trayectoria de la cámara de recepción de muestras de la cubeta reemplazable del chip electrónico y (2) recibe y procesa la señal eléctrica del módulo del espectrómetro generada para una muestra de sangre completa. El valor de longitud de trayectoria de la cámara de muestras se utiliza para transformar la señal eléctrica en una señal de salida utilizable para mostrar e informar los valores de los parámetros de hemoglobina y/o los valores de los parámetros de bilirrubina total para la muestra de sangre total.

10

El módulo emisor de luz puede incluir una pluralidad de componentes ópticos dispuestos en la trayectoria óptica entre la fuente de luz LED y el conjunto de cubeta, donde la pluralidad de componentes ópticos incluye al menos un difusor óptico y uno o más de una lente de colimación, un polarizador circular y una lente de enfoque.

15 En una realización de la presente invención, el módulo de luz de calibración puede incluir un difusor dispuesto en la trayectoria óptica aguas abajo del conjunto de cubeta, pero aguas arriba de un divisor de haz.

En incluso otro aspecto de la presente invención, el módulo de muestras ópticas se puede usar en un sistema de medición de absorbancia óptica para sangre completa. El sistema incluye el módulo de muestras ópticas, una fibra óptica, un módulo de espectrómetro y un módulo procesador. El módulo de muestras ópticas incluye un módulo emisor de luz, un módulo de cubeta, un primer difusor óptico y un segundo difusor óptico. El módulo de cubeta se posiciona entre el primer difusor óptico y el segundo difusor óptico. El módulo del espectrómetro recibe la luz del extremo emisor de luz de la fibra óptica, separando la luz en una pluralidad de haces de luz y convirtiendo la pluralidad de haces de luz en una señal eléctrica. El módulo procesador recibe y procesa la señal eléctrica del módulo del espectrómetro generada para la muestra de sangre completa y transforma la señal eléctrica en una señal de salida utilizable para mostrar e informar valores de parámetros de hemoglobina y/o valores de parámetros de bilirrubina total para la muestra de sangre completa.

20

25

El módulo del espectrómetro puede incluir una hendidura de entrada posicionada en la trayectoria óptica para recibir la luz emitida desde el extremo emisor de luz de la fibra óptica y para transmitir la luz a través de la misma, un elemento dispersor de luz dispuesto en la trayectoria óptica donde el elemento dispersor de luz recibe la luz transmitida a través de la hendidura de entrada, separa la luz en la pluralidad de haces de luz donde cada haz de luz tiene una longitud de onda diferente, y redirige la pluralidad de haces de luz hacia atrás, pero con un desplazamiento de la hendidura de entrada, y un detector de matriz de luz capaz de recibir la pluralidad de haces de luz y convertir la pluralidad de haces de luz en una señal eléctrica para su posterior procesamiento.

30

El módulo del espectrómetro puede tener un medio de compensación térmica para mantener una posición de la pluralidad de haces de luz en el detector de matriz de luz. El medio de compensación térmica incluye uno o más de aislamiento dispuesto alrededor de la carcasa del espectrómetro, un conjunto de controlador de temperatura dispuesto en la carcasa del espectrómetro (siendo el conjunto de controlador de temperatura, por ejemplo, una cinta de calentamiento con un termistor u otro componente de medición de temperatura y un programa que controla el calentamiento de la cinta según la temperatura dentro de la carcasa del espectrómetro), y una montura de lente de compensación térmica.

40

La montura de la lente de compensación térmica puede tener un extremo de montura fijo y un extremo de montura no fijo que permite la expansión y contracción térmica de la montura de la lente de compensación térmica. El extremo de montura fijo está unido de manera fija a una placa base o a una parte inferior de la carcasa del espectrómetro. La montura de la lente tiene un coeficiente de expansión mayor que el coeficiente de expansión de la placa base o la carcasa del espectrómetro a la que se encuentra unida la montura de la lente. La montura de la lente de compensación térmica se mueve lineal y transversalmente con respecto a una trayectoria óptica de la luz desde la hendidura de entrada de luz según el coeficiente de expansión de la montura de la lente. Este movimiento basado en la temperatura de la montura de la lente mantiene la posición de la luz dispersada desde el elemento dispersor de luz sobre el detector de matriz de luz. En otras palabras, el reposicionamiento térmico de la lente acromática por medio de la montura de la lente de compensación térmica hace que la luz dispersada del elemento dispersor de luz incida en el detector de matriz de luz sin afectar la señal eléctrica generada por el detector de matriz de luz de la luz incidente. El elemento dispersor de luz, al reaccionar a un cambio de temperatura, provoca el desplazamiento del haz de luz.

50

55

En otra realización, el módulo de muestras ópticas se puede usar en un espectrómetro compacto para medir parámetros de hemoglobina en sangre completa. El espectrómetro incluye una carcasa cerrada que tiene un extremo de entrada de luz/un extremo de carcasa de fibra óptica con un puerto de entrada de luz, una hendidura de entrada de luz dispuesta en un sustrato de circuito electrónico, el sustrato de circuito electrónico dispuesto en la carcasa

60

cerrada, donde la hendidura de entrada de luz está alineada con y es adyacente al puerto de entrada de luz, un detector de matriz de luz dispuesto en el sustrato de placa de circuito adyacente a la hendidura de entrada de luz, y un grupo de componentes ópticos que consiste en un elemento dispersor de luz dispuesto aguas abajo de la hendidura de entrada de luz y una lente acromática esférica dispuesta entre la hendidura de entrada de luz y el elemento dispersor de luz, donde el elemento dispersor de luz tiene una superficie reflectante en un lado posterior para reflejar la luz dispersada hacia atrás, con dirección a la lente acromática. La lente acromática transmite luz desde la hendidura de entrada de luz al elemento dispersor de luz y transmite luz dispersada reflejada desde el elemento dispersor de luz al detector de matriz de luz. Para lograr esto, la lente acromática está ligeramente fuera del eje con respecto a la luz procedente de la hendidura de entrada de luz, de modo tal que la luz dispersada desde el elemento dispersor de luz no se dirige de nuevo a la hendidura de entrada de luz, sino al detector de matriz de luz.

En un ejemplo adicional, se describe un procedimiento para medir los parámetros de hemoglobina en sangre completa a pesar de la fuerte dispersión óptica causada por la sangre completa. El procedimiento incluye proporcionar una fuente de luz tal como una fuente de luz LED con un intervalo espectral de alrededor de 422 nm a alrededor de 695 nm, guiar la luz que tiene el intervalo espectral desde la fuente de luz a lo largo de una trayectoria óptica, proporcionar un módulo de cubeta con una cámara de recepción de muestras que tiene una primera ventana de la cubeta dispuesta en la trayectoria óptica, donde la primera ventana de la cubeta transmite la luz a través de la cámara de recepción de muestras y a través de una segunda ventana de la cubeta alineada con la primera ventana de la cubeta, donde la cámara de recepción de muestras contiene una muestra de sangre completa, proporcionar un par de difusores (es decir, un primer difusor y un segundo difusor) dispuestos en la trayectoria óptica, donde la primera ventana de la cubeta y la segunda ventana de la cubeta de la cámara de recepción de muestras de la cubeta se disponen entre el par de difusores, guiar la luz del módulo de cubeta a un espectrómetro que tiene un elemento dispersor de luz que separa la luz en una pluralidad de haces de luz, donde cada haz de luz tiene una longitud de onda diferente y convierte la pluralidad de haces de luz en una señal eléctrica, y procesar la señal eléctrica en una señal de salida utilizable para mostrar e informar valores de parámetros de hemoglobina y/o valores de parámetros de bilirrubina total de la muestra de sangre completa.

En otro ejemplo del procedimiento, la etapa de procesamiento incluye procesar la señal eléctrica a absorbancia espectral y, a continuación, mapear la absorbancia espectral a valores de parámetros de hemoglobina y/o valores de parámetros de bilirrubina usando una función de mapeo computacional.

En incluso otro ejemplo del procedimiento, la etapa de procesamiento incluye el uso de una proyección ortogonal basada en kernel para la función de mapeo de estructuras latentes como la función de mapeo computacional.

En otro ejemplo del procedimiento, se describe un procedimiento para medir parámetros de hemoglobina en una muestra de sangre completa. El procedimiento incluye (1) medir y registrar un barrido de la intensidad de luz transmitida sobre una pluralidad de longitudes de onda en un intervalo de medición transmitiendo luz a través de un módulo de cubeta que tiene una trayectoria óptica con una longitud de trayectoria óptica conocida, a través del cual el módulo de cubeta se llena con un fluido transparente, (2) medir y registrar un barrido de intensidad de luz transmitida sobre la pluralidad de longitudes de onda del intervalo de medición transmitiendo luz a través de la cubeta una segunda vez, con la trayectoria óptica que tiene la longitud de trayectoria óptica conocida a través del misma, donde el módulo de cubeta se llena con una muestra de sangre completa, donde cada etapa de medición y registro del fluido transparente y la muestra de sangre completa incluye la difusión y la polarización circular de la luz transmitida antes de transmitir la luz transmitida a través del módulo de cubeta y, a continuación, la difusión de la luz transmitida que emite el módulo de cubeta antes de determinar una absorbancia espectral, (3) determinar una absorbancia espectral en cada longitud de onda de la pluralidad de longitudes de onda del intervalo de medición según una relación del barrido de la intensidad de luz transmitida de la muestra de sangre completa respecto al barrido de la intensidad de luz transmitida del fluido transparente usando un espectrómetro basado en prismas, y (4) correlacionar la absorbancia en cada longitud de onda de la pluralidad de longitudes de onda del intervalo de medición con valores de parámetros de hemoglobina y/o valores de parámetros de bilirrubina de la muestra de sangre usando una función de mapeo computacional.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

LA FIGURA 1 es una vista en perspectiva simplificada que muestra un subsistema de COOx compacto que comprende un módulo de muestras ópticas según una realización de la presente invención.  
 La FIGURA 2 es una vista en alzado lateral de la realización de un módulo de muestras ópticas que se muestra en la Fig. 1.  
 La FIGURA 3 es una vista en perspectiva frontal de una realización de un módulo emisor de luz del módulo de muestras ópticas que se muestra en la Fig. 2.  
 La FIGURA 3A es una vista en perspectiva frontal del módulo emisor de luz que se muestra en la Fig. 3 que muestra

una pluralidad de componentes ópticos.

La FIGURA 3B es una vista en alzado lateral ampliada de los componentes ópticos que se muestran en la Fig. 3A.

La FIGURA 4 es una vista en perspectiva delantera de una realización de un conjunto de cubeta del módulo de muestras ópticas que se muestra en la Fig. 1.

5 La FIGURA 5 es una vista en perspectiva trasera del conjunto de cubeta que se muestra en la Fig. 4.

La FIGURA 6 es una vista en alzado frontal de un módulo de cubeta del conjunto de cubeta que muestra los puertos de entrada y salida de fluido, una cámara de recepción de muestras, una ventana de muestras y un ensamblado de chip electrónico.

10 La FIGURA 7 es una vista en perspectiva trasera de la cámara de recepción de muestras de la Fig. 6 que muestra la primera y la segunda ventana de la cubeta.

La FIGURA 8 es una vista en planta trasera de la cámara de recepción de muestras que muestra el conjunto de chip electrónico dispuesto adyacente a la cámara de recepción de muestras.

La FIGURA 9 es una vista en perspectiva de una realización de un módulo de luz de calibración del módulo de muestras ópticas de la Fig. 1.

15 La FIGURA 10 es una vista en sección transversal lateral del módulo de luz de calibración de la Fig. 8 que muestra una fuente de luz de calibración.

La FIGURA 11 es una vista en planta lateral simplificada de la fuente de luz de calibración del módulo de luz de calibración de la Fig. 9 que muestra una pluralidad de componentes ópticos.

20 La FIGURA 12 es una vista en perspectiva frontal de una realización de un módulo de espectrómetro de la Fig. 1 con una cubierta eliminada que muestra los componentes internos.

La FIGURA 13 es una vista en perspectiva trasera del módulo del espectrómetro de la Fig. 12 que muestra una hendidura de luz de entrada y un detector de matriz de luz adyacente;

La FIGURA 14 es una vista en sección transversal trasera del módulo de espectrómetro de la Fig. 12 que muestra una sola placa de circuito y la ubicación de la hendidura de luz de entrada y el detector de matriz de luz.

25 La FIGURA 15 es una vista superior del módulo del espectrómetro de la Fig. 12 que muestra los componentes ópticos con traza de rayos superpuestos.

La FIGURA 16 es una traza de rayos que muestra la luz de entrada de la hendidura de luz de entrada y una pluralidad de haces de luz refractados en el detector de matriz de luz.

30 La FIGURA 17A es una vista en perspectiva de una realización de un medio de compensación térmica para el módulo del espectrómetro que muestra el aislamiento envuelto alrededor del módulo del espectrómetro.

La FIGURA 17B es una vista en perspectiva de otra realización de un medio de compensación térmica para el módulo del espectrómetro que muestra un conjunto de control de temperatura.

La FIGURA 17C es una vista en sección transversal de una realización de una montura de la lente del módulo del espectrómetro de la Fig. 12 que muestra una montura de la lente de compensación de temperatura.

35 La FIGURA 18 es una vista en sección transversal de una realización de una montura de la lente del módulo del espectrómetro de la Fig. 12 que muestra una montura de la lente fija.

La FIGURA 19 es una ilustración gráfica que muestra los resultados de correlación del subsistema analizador de COOx que comprende un módulo de muestras ópticas de la presente invención para la hemoglobina total utilizando una función y un procedimiento de mapeo K-OPLS.

40 La FIGURA 20 es una ilustración gráfica que muestra los resultados de correlación del subsistema analizador de COOx que comprende un módulo de muestras ópticas de la presente invención para la oxihemoglobina utilizando una función y un procedimiento de mapeo K-OPLS.

45 La FIGURA 21 es una ilustración gráfica que muestra los resultados de correlación del subsistema analizador de COOx que comprende un módulo de muestras ópticas de la presente invención para carboxihemoglobina utilizando una función y un procedimiento de mapeo K-OPLS.

La FIGURA 22 es una ilustración gráfica que muestra los resultados de correlación del subsistema analizador de COOx que comprende un módulo de muestras ópticas de la presente invención para la desoxihemoglobina utilizando una función y un procedimiento de mapeo K-OPLS.

50 La FIGURA 23 es una ilustración gráfica que muestra los resultados de correlación del subsistema analizador de COOx que comprende un módulo de muestras ópticas de la presente invención para metaemoglobina utilizando una función y un procedimiento de mapeo K-OPLS.

La FIGURA 24 es una ilustración gráfica que muestra los resultados de correlación del subsistema analizador de COOx que comprende un módulo de muestras ópticas de la presente invención para la bilirrubina total utilizando una función y un procedimiento de mapeo K-OPLS.

55

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

En las Fig. 1-24, se ilustran realizaciones de la presente invención. La Figura 1 muestra una realización de un subsistema analizador de COOx 10. El subsistema analizador de COOx 10 incluye al menos un módulo de muestras ópticas 20, una fibra óptica 90 y un módulo de espectrómetro 100. El subsistema de analizador de COOx 10 puede incluir opcionalmente un módulo procesador 150 o el módulo procesador 150 se puede incluir opcionalmente en un

circuito electrónico de un sistema de diagnóstico donde el subsistema de analizador de COOx 10 forma parte. La línea 5 se incluye para indicar que el módulo procesador 150 puede o no ser parte del subsistema de COOx 10. El módulo procesador 150 incluye, aunque no se limita a, un módulo de microprocesador 152 y un módulo de memoria 154. Opcionalmente, el módulo procesador 150 también puede incluir un módulo convertidor 156 o el módulo convertidor 5 156 puede ser externo al subsistema de analizador de COOx 10. El subsistema analizador de COOx 10 se usa para medir los parámetros de hemoglobina de la sangre tales como hemoglobina total (tHb), carboxihemoglobina (COHb), desoxihemoglobina (HHb), oxihemoglobina (O<sub>2</sub>Hb), metahemoglobina (MetHb) y hemoglobina fetal (FHb), así como también bilirrubina total (tBil), mediante el uso de absorbancia óptica.

10 La Figura 2 ilustra el módulo de muestras ópticas 20. El módulo de muestras ópticas 20 incluye un módulo emisor de luz 22, un conjunto de cubeta 40 y un módulo de luz de calibración 60. El módulo emisor de luz 22, como implica el término, emite un haz de luz visible hacia el conjunto de cubeta 40 que, a continuación, el módulo de luz de calibración 60 recibe y después se transmite al módulo del espectrómetro 100. El haz de luz 12 define una trayectoria óptica 21.

15 Las Figuras 3-3A ilustran vistas en perspectiva de la realización del módulo emisor de luz 22 de la Fig. 2. El módulo emisor de luz 22 incluye un sustrato de módulo emisor de luz 24 que contiene un circuito eléctrico (no se muestra) y un conjunto óptico emisor de luz 25. El conjunto óptico emisor de luz 25 tiene una carcasa del conjunto óptico 26 con un extremo del conjunto óptico 26a. Un haz de luz visible 28a se emite desde el extremo del conjunto óptico 26a del conjunto óptico emisor de luz 25 cuando el módulo emisor de luz 22 se enciende mediante una señal que recibe del 20 módulo procesador 150. La Fig. 3A ilustra el conjunto óptico emisor de luz 25 con la carcasa del conjunto óptico 26 eliminado, exponiendo una pluralidad de componentes ópticos B contenidos dentro del conjunto emisor de luz 25.

Ahora con respecto a la Figura 3B, se ilustra una vista lateral ampliada de la pluralidad de componentes ópticos B de la Fig. 3A. En esta realización, los componentes ópticos B incluyen una fuente de luz de un diodo emisor de luz (LED) 25 28, una lente de colimación 30, un primer difusor 32, un polarizador circular 34, una lente de enfoque 36 y una ventana de protección opcional 38. El polarizador circular 34 proporciona una clara ventaja. Esta ventaja proporciona una mayor sensibilidad y precisión del sistema. La hemoglobina tiene características ópticas de rotación, lo que significa que la sensibilidad de polarización de un espectrómetro causará un error de absorbancia si se usa luz polarizada no circular para medir la absorbancia de la hemoglobina. A diferencia de otros estados de polarización de la luz, el estado de 30 polarización de la luz polarizada circularmente no se cambia cuando pasa a través de la hemoglobina. Por consiguiente, la respuesta de polarización del espectrómetro es la misma para la luz polarizada circularmente que pasa a través de la hemoglobina que para el barrido de referencia tomado con la cubeta llena de un fluido transparente.

Las Figuras 4 y 5 ilustran vistas en perspectiva delantera y trasera de una realización del conjunto de cubeta 40. El 35 conjunto de cubeta 40 incluye un sustrato de cubeta 41 y un módulo de cubeta 43. El sustrato de cubeta 41 proporciona un soporte para sujetar el conjunto de cubeta 40 dentro del subsistema de análisis 10 e incluye una abertura de trayectoria de luz de cubeta 42 que se dispone dentro de la trayectoria óptica 21 y se alinea con el haz de luz que emite el módulo emisor de luz 22. El módulo de cubeta 43 incluye una primera porción de la cubeta 44 que tiene un rebaje de recepción de muestras 45, un puerto de entrada de muestras 46, un puerto de salida de muestras 47, un 40 conjunto de chip electrónico 48 y una primera ventana de la cubeta 49, y una segunda porción de la cubeta 50 que tiene una segunda ventana de la cubeta 52 (que se muestra en la Fig. 6 y se delinea como contorno 53) opuesta y alineada con la primera ventana de la cubeta 49, donde la primera y la segunda ventana de la cubeta 49, 52 se alinean y dispersan dentro de la trayectoria óptica 21. La primera porción de la cubeta 44 y la segunda porción de la cubeta 50 se unen entre sí con una junta dispuesta entre la primera y la segunda porción de la cubeta 44, 50 o sin ella. La 45 unión se puede lograr usando adhesivos, técnicas ultrasónicas, técnicas basadas en disolventes, etc. Cuando se ensambla, y tal como se muestra en la Fig. 6, el rebaje de recepción de muestras 45 de la primera porción de la cubeta 44 forma una cámara de recepción de muestras 54 con la segunda porción de la cubeta 50 que se comunica de manera fluida con los puertos de entrada y de salida de muestras 46, 47. La distancia entre la primera y la segunda ventana de la cubeta 49, 52 de la cámara de recepción de muestras 54 define una longitud de trayectoria óptica de 50 cubeta, que se mide y almacena con precisión dentro del chip electrónico 48 para su posterior recuperación a través del módulo procesador 150. Una longitud de trayectoria óptica típica que se usa en esta realización de la presente invención es de 0,0035 pulgadas (0,090 mm).

Ahora con referencia a la Figura 7, se ilustra una vista en perspectiva trasera ampliada de la primera y la segunda 55 porción de la cubeta 44, 50. Como se muestra, la primera porción de la cubeta 44 tiene un rebaje de cámara de muestras 45 con una primera ventana de la cubeta 49 y un rebaje de chip electrónico 48a para recibir el conjunto de chip electrónico 48. La segunda porción de la cubeta 50 tiene una segunda ventana de la cubeta 52 que forma la cámara de recepción de muestras 54 cuando se ensambla junto con la primera porción de la cubeta 44. La segunda ventana de la cubeta 52, que se delinea mediante un contorno 53 en la segunda porción de la cubeta 50, es una 60 superficie elevada que forma un sello hermético alrededor del rebaje de la cámara de muestras 45 y la cámara de recepción de muestras 54. Opcionalmente, se puede posicionar una junta delgada entre la primera y la segunda

porción de la cubeta 44, 50 para garantizar más fácilmente un sello hermético. La Figura 8 muestra una vista trasera de la primera porción de la cubeta 44 con el conjunto de chip electrónico 48 dispuesto dentro del rebaje de chip electrónico 48a. El conjunto de chip electrónico 48 incluye una placa de circuito de chip 48B y un chip electrónico 48C que almacena el valor de longitud de trayectoria óptica de cubeta para el módulo de cubeta particular 43. La primera  
5 ventana de la cubeta 49 se dispone dentro de la trayectoria óptica 21 y transmite el haz de luz que pasa a través de la muestra al módulo de luz de calibración 60, el cual, a continuación, pasa el haz de luz al módulo del espectrómetro 100.

Ahora con respecto a la Figura 9, se ilustra una realización del módulo de luz de calibración 60. El módulo de luz de calibración 60 incluye una carcasa del módulo de calibración 62, una porción de recepción del haz de luz 64, una  
10 porción de luz de calibración 70 y una porción de fibra óptica 80 donde la carcasa del módulo de calibración 62, la porción de recepción del haz de luz 64 y la porción de fibra óptica 80 se alinean con la trayectoria óptica 21. La porción de luz de calibración 70 está separada y es transversal a la trayectoria óptica 21.

15 La Figura 10 es una vista en alzado en sección transversal del módulo de luz de calibración 60. La carcasa del módulo de calibración 62 incluye un primer conducto tubular 62a entre una abertura de entrada de haz de luz 62b y una abertura de salida de haz de luz 62c, así como también un segundo conducto tubular 62d que es transversal y se cruza con el primer conducto tubular 62a en un extremo y tiene una abertura de haz de luz de calibración 62e en un extremo opuesto.  
20

La porción de recepción del haz de luz 64 aloja una lente de colimación 66 que colima el haz de luz 28a recibido a lo largo de la trayectoria óptica 21 desde el módulo de cubeta 43 y dirige el haz de luz 28a hacia el primer conducto tubular 62a. Dispuesto dentro de la carcasa del módulo de calibración 62, se encuentra el conjunto de soporte del divisor de haz 67, ubicado transversalmente a través del primer conducto tubular 62a. El conjunto de soporte del divisor de haz  
25 de haz 67 tiene una superficie inclinada hacia arriba 67a orientada hacia la abertura del haz de luz de calibración 62e y la abertura de salida del haz de luz 62c dentro de la trayectoria óptica 21. El conjunto de soporte del divisor de haz 67 soporta un segundo difusor 68 y un divisor de haz 69 (que se muestra en la Fig. 11) que se dispone aguas abajo a lo largo de la trayectoria óptica 21 desde el segundo difusor 68, de modo tal que se posiciona para recibir el haz de luz de calibración 72a y dirigirlo a lo largo de la trayectoria óptica 21 y el primer conducto tubular 62a a la abertura de  
30 salida del haz de luz 62c.

La porción de luz de calibración 70 incluye una fuente de luz de calibración 72 dispuesta adyacente a, pero separada de, la trayectoria óptica 21 que es capaz de dirigir un haz de luz de calibración 72a hacia la carcasa del módulo de calibración 62 a través de una abertura de luz de calibración 62e en sentido transversal a la trayectoria óptica 21 hacia  
35 el conjunto de soporte del divisor de haz 67. Dentro de la porción de luz de calibración 70, hay una lente de colimación 74 que colima el haz de luz de calibración 72a antes de que lo refleje el conjunto divisor de haz 67 hacia la abertura de salida del haz de luz 62c.

La porción de fibra óptica 80 está ubicada dentro de la trayectoria óptica 21 en o en las proximidades de la abertura de salida del haz de luz 62c. La porción de fibra óptica 80 incluye una lente de enfoque 82 y un conjunto de conector de fibra óptica 84 que incluye una carcasa del conector 86 que se adapta para recibir un conjunto de fibra óptica 90. La porción de fibra óptica 80 se adapta a fin de garantizar que el haz de luz 28a se enfoque correctamente al enfocar la lente 82 en el conjunto de fibra óptica 90.  
40

La Figura 11 es una ilustración simplificada de la Fig. 10 que muestra la relación posicional de los componentes ópticos 66, 68, 69, 74, 82 y los haces de luz 28a, 72a, así como también el conjunto de fibra óptica 90. Como se puede observar a partir de la Fig. 11, la lente de colimación 66 recibe el haz de luz 28a, el cual se transmite a través del segundo difusor 68 y el divisor de haz 69 a la lente de enfoque 82 y al conjunto de fibra óptica 90. Como se analizó antes, la importancia de usar un par de difusores (un primer difusor 32 y un segundo difusor 68) con el módulo de  
50 cubeta 43 entre el par de difusores 32, 68 es que la distribución espacial de la luz aparecerá igual para el barrido en blanco y el barrido de la muestra de sangre completa. El uso de los difusores 32, 68 en esta disposición elimina el efecto de error que surge de la falta de uniformidad de la fuente de luz y/o la variación en los cambios en la distribución espacial de la luz incidente, incluso si la intensidad general no ha cambiado. Los difusores 32, 68 se eligen de modo tal que difundan un rayo de luz incidente en el cono de aceptación total del grupo de componentes ópticos 120 del  
55 módulo del espectrómetro 100. Esto codifica efectivamente el rayo por completo a través del campo de medición óptica.

Cuando se activa el haz de luz de calibración 72a, la lente de colimación 74 lo recibe, el mismo se transmite al divisor de haz 69 y se dirige a la lente de enfoque 82 donde se enfoca en el conjunto de fibra óptica 90. La calibración del haz  
60 de luz 72a tiene longitudes de onda específicas de luz que se utilizan para calibrar la escala de longitud de onda del módulo del espectrómetro 100. Un ejemplo de una fuente de luz de calibración 72 aceptable es una lámpara de

descarga de gas de criptón (Kr), que proporciona siete longitudes de onda de línea de Kr en nanómetros que cubren el intervalo de 422 a 695 nm. El prisma 131 del componente dispersor de luz 130 tiene una dispersión no lineal frente a la longitud de onda que requiere un polinomio u otra función de un orden superior. La presente invención utiliza un polinomio de 5<sup>o</sup> orden para las ubicaciones de píxeles de los picos de la línea Kr para proporcionar errores residuales muy por debajo del requisito de precisión de longitud de onda absoluta de +/- 0,03 nm.

El conjunto de fibra óptica 90 incluye una fibra óptica 92, un primer conector de fibra óptica 94 y un segundo conector de fibra óptica 96 (como se muestra en la Fig. 12). El primer conector de fibra óptica 94 se fija a un extremo de recepción de luz 92a de la fibra óptica 92 y se conecta directamente y de manera extraíble a la carcasa de conectores 86 del conjunto de conector de fibra óptica 84. Una realización de la fibra óptica 92 incluye una fibra de núcleo de sílice de 200 µm con una apertura numérica (NA) de 0,22.

Ahora con referencia a las Figuras 12 y 13, se ilustra una realización del módulo del espectrómetro 100. El módulo del espectrómetro 100 incluye una carcasa del espectrómetro 102, una base del espectrómetro 104, una cubierta del espectrómetro 106 (que se muestra en la Fig. 1), un extremo de la carcasa de la fibra óptica 108 y un acoplador de salida de señal eléctrica 103. El módulo del espectrómetro 100 tiene una dimensión envolvente exterior de 11 cm x 8 cm x 2 cm y opcionalmente incluye estructuras de compensación térmica que se analizan más adelante. La carcasa del espectrómetro 102 contiene los componentes esenciales del módulo del espectrómetro 100. Estos componentes incluyen un conjunto de recepción y conversión de luz 110 y un grupo de componentes ópticos 120. El grupo de componentes ópticos 120 incluye una montura de la lente acromática 121 y un elemento dispersor de luz 130. El elemento dispersor de luz 130 puede ser un prisma 131 o una rejilla 136. El conjunto de fibra óptica 90 se fija de manera extraíble al extremo de la carcasa de la fibra óptica 108 en el puerto de entrada de luz 109, cuyo conjunto de fibra óptica 90 transmite los haces de luz 28a, 72a al módulo del espectrómetro 100. Como se ha mencionado anteriormente, el haz de luz 28a representa la luz transmitida desde el módulo emisor de luz 22 a través del módulo de cubeta 43, mientras que el haz de luz 72a es la luz de calibración transmitida desde el módulo de luz de calibración 60, el cual se usa para calibrar el módulo del espectrómetro 100.

El conjunto de la lente acromática 121 incluye una montura de la lente 122 y una lente acromática esférica 124. La lente acromática 124 recibe los haces de luz 28a, 72a, según sea el caso, y dirige el haz de luz al elemento dispersor de luz 130, que en esta realización es el prisma 131. El prisma 131 tiene un recubrimiento reflectante 132 en una superficie posterior externa. El prisma 130 refracta el haz de luz 28a y refleja la luz hacia atrás, con dirección a la lente acromática 124.

El conjunto de recepción y conversión de luz 110 está montado de manera fija, adyacente a una superficie interior 108a del extremo de la carcasa de fibra óptica 108. El conjunto de recepción y conversión de luz 110 incluye un sustrato de placa de circuito 112 sobre el que se monta una hendidura de entrada de luz 114 que está alineada con el extremo emisor de luz 92b (no se muestra) de la fibra óptica 92. Adyacente a la hendidura de entrada 114, se ubica un detector de matriz de luz 116 que recibe la luz refractada del prisma 131. El detector de matriz de luz 116 convierte la luz refractada en una señal eléctrica, que se emite a través del conector de salida 118 al módulo procesador 150. Proporcionar la hendidura de entrada de luz 114 y el detector de matriz de luz 116 adyacentes entre sí en la placa de circuito 112 tiene varias ventajas. Esta característica simplifica en gran medida la construcción y mejora la precisión del módulo del espectrómetro 100. Otros espectrómetros sitúan estos elementos en planos separados, donde tienen estructuras de montaje separadas y se deben ajustar de manera independiente. Esta característica de montar la hendidura de entrada y el detector de matriz de luz adyacentes entre sí en la placa de circuito 112 elimina la necesidad de montar y posicionar cada estructura (es decir, la hendidura y el detector) por separado.

La Figura 14 es una vista ampliada del conjunto de recepción y conversión de luz 110. La hendidura de entrada de luz 114 tiene 15 µm de ancho por 1000 µm de largo que proyecta una imagen de hendidura de fibra óptica que es un rectángulo de aproximadamente 15 µm de ancho por 200 µm de alto en el detector de matriz de luz 116 (Hamamatsu S10226-10 es un ejemplo de un detector de matriz de luz utilizable). La hendidura de entrada 114 se aplica directamente sobre el mismo sustrato de placa de circuito 112 y muy cerca del detector de matriz de luz 116. El detector de matriz de luz 116 tiene una altura de píxel entre alrededor de 100 y alrededor de 150 µm, lo que permite una formación de imágenes de uno a uno de la fibra óptica de 200 µm de diámetro sobre el detector. En esta realización, la hendidura de entrada 114 se graba con láser en una posición precisa con respecto al detector de matriz de luz 116, lo que hace que la alineación sea menos laboriosa. Debido a que la hendidura de entrada 114 y el detector de matriz de luz 116 están solo ligeramente fuera del eje con respecto al eje central de la lente acromática 124, existe una aberración mínima y es posible una formación de imágenes uno a uno en el detector de matriz de luz 116, de modo tal que no se requiere una lente de enfoque cilíndrica para contraer la imagen de fibra óptica (fibra de 200 µm de diámetro) para que coincida con la altura de píxel del detector de matriz de luz 116.

Ahora, volviendo a la Figura 15, hay una vista superior del módulo del espectrómetro 100 de la Fig. 13. Superpuesto

a la Fig. 15, hay un diagrama de trazado de rayos 140 del haz de luz que la fibra óptica 92 suministra al módulo del espectrómetro 100. Como se muestra, el haz de luz 28a entra en el módulo del espectrómetro 100 a través de la hendidura de entrada 114 hacia la lente acromática 124. La lente acromática 124 se utiliza fuera del eje; es decir, la lente acromática está ligeramente fuera del eje del haz de luz 28a. El haz de luz 28a se transmite mediante la lente acromática 124 al prisma 131, donde el haz de luz 28a se refracta en una pluralidad de haces de luz 138a, 138b, 138c de diferentes longitudes de onda, tal como deben hacerlo los prismas. La pluralidad de haces de luz 138a, 138b, 138c se refleja mediante el prisma 131 de regreso a la lente acromática 124. La lente acromática 124 se utiliza fuera del eje con el fin de dirigir la pluralidad de haces de luz refractados y reflejados 138a, 138b, 138c desde el prisma 131 sobre el detector de matriz de luz 116.

10

La Figura 16 es una vista ampliada del diagrama de trazado de rayos 140. La lente acromática 124 se utiliza fuera del eje con respecto a la entrada del haz de luz 28a. Mediante el uso de la lente acromática 124 fuera del eje junto con el prisma 131 que tiene un recubrimiento reflectante 132 sobre una base del prisma 131, se logra un módulo de espectrómetro compacto, simplificado, de componentes mínimos 100 que se puede usar para medir los parámetros de hemoglobina y/o los parámetros de bilirrubina total en sangre completa.

15

Un cambio en la temperatura tiene un mayor efecto en el ángulo de refracción del haz cuando se utiliza un prisma en lugar de una rejilla de difracción. En la presente invención, se proporciona un medio de compensación térmica 160 para compensar un desplazamiento térmico en el haz de luz entrante mediante el elemento dispersor de luz 130. Un cambio de temperatura dentro del módulo del espectrómetro 100 provoca un movimiento inducido térmicamente de la imagen de hendidura desde la hendidura de entrada 114 en el detector de matriz de luz 116 provocado, a su vez, por cambios inducidos térmicamente en el índice de refracción del prisma dispersivo 131. La Fig. 16 muestra la dirección de movimiento de la imagen en el detector de matriz de luz 116 para el cambio del índice de refracción térmica en el prisma 131 con la flecha 400. Si la lente 124 se mueve en la dirección opuesta durante el mismo intervalo de temperatura como lo indica la flecha 402, la imagen de la hendidura se moverá de nuevo a donde debería estar en el detector de matriz de luz 116. Para impedir este cambio, el medio de compensación térmica 160 puede ser tan simple como envolver el módulo del espectrómetro 100 con aislamiento para minimizar el cambio de temperatura dentro del módulo del espectrómetro 100 de un cambio de temperatura que ocurre fuera del módulo del espectrómetro 100 o para situar el módulo del espectrómetro 100 dentro de un espacio de temperatura controlada. Otro medio es incluir un montaje de controlador de temperatura 170 que incluye al menos un calentador de cinta 172 unido a una superficie interior o una superficie exterior de la carcasa del espectrómetro 102 y un sensor de temperatura 174 tal como un termopar o termistor para medir la temperatura de la carcasa del espectrómetro y un circuito calentador para mantener una temperatura constante predefinida. Las Figuras 17A y 17B ilustran estas posibilidades.

20

25

30

35

En una realización que se muestra en la Fig. 17C, la montura de la lente acromática 122 es una montura de una lente de compensación térmica. La montura de la lente de compensación térmica 122 tiene un extremo de montura fijo 122a y un extremo de montura no fijo 122b. El extremo de montura fijo 122a se sujeta de manera fija a la base del espectrómetro 104 o a una placa base 104a unida firmemente a la base del espectrómetro 104. El extremo de montura no fijo 122b típicamente tiene un tornillo pasador 126 que se extiende a través de una ranura de la montura de la lente 122c de la montura de la lente 122 y hacia la base del espectrómetro 104 o la placa base 104a. Entre la cabeza 126a del tornillo pasador 126 y la montura de la lente 122 hay un resorte de sujeción 128. Hay suficiente separación entre la ranura de montura de la lente 122c y el tornillo pasador 126 para permitir la expansión/contracción de la montura de la lente 122 como resultado de un cambio de temperatura. El coeficiente de expansión de la montura de la lente 122 es mayor que el coeficiente de expansión de la base del espectrómetro 104 y/o la placa base 104a de modo tal que el extremo de montura no fijo 122b permite la expansión y contracción térmica de la montura de la lente de compensación térmica 122 en una dirección que se muestra con la flecha 500, que es lineal y transversal al haz de luz de la hendidura de entrada 114. Esta estructura permite que la lente acromática 124 se deslice con respecto a otros componentes montados en la placa base 104a y/o la base del espectrómetro 104. La montura de la lente compensada térmicamente 122 garantiza que la pluralidad de haces de luz 138a, 138b, 138c siempre incida con suficiente intensidad en el detector de matriz de luz 116 sin afectar la señal eléctrica que genera el detector de matriz de luz 116 a pesar de que haya un cambio de temperatura dentro de la carcasa del espectrómetro 102. Uno de estos materiales que cumple con el requisito de que la montura de la lente 122 tenga un mayor coeficiente de expansión que la base del espectrómetro 104 y/o la placa base 104a (según sea el caso) es un plástico que es una resina de éter de polifenileno modificado (PPE), que consiste en mezclas amorfas de resina de éter de polifenileno (PPO) y poliestireno, disponible comercialmente con la marca NORYL®.

40

45

50

55

La Figura 18 ilustra una realización alternativa de la montura de la lente 122. En esta realización, la montura de la lente 122 tiene dos extremos de montura fijos 122a, donde cada extremo 122a se fija en la placa base 104a y/o la base del espectrómetro 104 mediante un tornillo pasador 126. Debido a que ambos extremos 122a de la montura de la lente 122 están fijos, cualquier cambio de temperatura dentro del módulo del espectrómetro 100 afectará el ángulo de la pluralidad de haces de luz 138a, 138b, 138c y dónde inciden en el detector de matriz de luz 116. Como se

60

describió anteriormente con respecto a la imagen de la hendidura y la longitud del detector de matriz de luz 116, un cambio de temperatura superior a 0,5 °C hará que la intensidad de uno de los haces de luz no incida completamente en el detector de matriz de luz, lo que provocaría una lectura inexacta. Para anular este efecto potencial, el módulo del espectrómetro 100 está equipado con un conjunto de controlador de temperatura (no se muestra) de modo tal que el prisma 131 y el conjunto de la lente acromática 121 permanezcan a una temperatura constante. Aunque hay varios procedimientos disponibles para mantener el interior del módulo del espectrómetro 100 a una temperatura constante, un ejemplo de dicho conjunto de controlador de temperatura para lograr esto es un calentador de cinta con un termistor (no se muestra) unido de manera adhesiva al interior o al exterior del módulo del espectrómetro 100, donde el control del calentador de cinta se realiza mediante un circuito de regulación electrónica (no se muestra). Opcionalmente, el módulo del espectrómetro 100 también puede aislarse dentro o fuera, o de ambas maneras, para mantener más fácilmente una temperatura dada y generar una protección contra los cambios de temperatura en las proximidades del módulo del espectrómetro 100. Otros mecanismos incluyen la colocación del módulo del espectrómetro 100 dentro de un entorno de temperatura controlada.

#### 15 Datos de Aprendizaje:

Se desarrolló un conjunto de datos de alrededor de 180 muestras de sangre de aproximadamente 15 individuos diferentes. Las muestras de sangre se manipularon utilizando nitrato de sodio para aumentar los valores de MetHb y utilizando gas CO para aumentar los valores de COHb. El plasma se eliminó o se añadió a las muestras para cambiar el nivel de tHb. Para variar el nivel de tBil, se añadió solución de adición de bilirrubina. Para manipular el nivel de oxígeno, se usó un tonómetro. Las muestras de sangre se manipularon para abarcar un amplio intervalo de valores de analito. A continuación, las muestras de sangre se midieron en un analizador pHOx Ultra de lisis de referencia equipado con el analizador de COOx y un software de análisis. Los espectros de sangre completa se recolectaron en un analizador pHOx Ultra equipado con la óptica de recolección de ángulo alto y otras modificaciones de la presente invención, como se describió anteriormente, con la línea de suministro de lisis completamente desconectada y las muestras de sangre completa fluyendo directamente hacia el conjunto de cubeta 40 sin lisis ni ninguna otra dilución. Ambos analizadores estaban equipados con ventanas Zeonex en las respectivas cubetas. Este conjunto de datos se convirtió en un archivo de matriz de celdas Matlab para su uso con scripts Matlab.

#### 30 Modelo de Predicción:

La siguiente etapa en el cálculo es crear un modelo de predicción. Para el análisis se desarrollaron tres modelos: uno para los parámetros COOx tHb y COHb, un segundo modelo para HHb y MetHb y un tercero para tBil. La cantidad de O2Hb se determinó restando la COHb, la HHb y la MetHb del 100 %. El conjunto de datos X se construyó a partir de términos creados a partir de la absorbancia medida en las longitudes de onda entre 462-650 nm, con un espaciado de 1 nm. El modelo de tBil se desarrolló utilizando el mismo conjunto de datos que el modelo COOx, excepto que las muestras con valores de MetHb superiores o iguales al 20 % se dejaron fuera del modelo. Para cada modelo, se asignaron cinco valores predictivos de Y (O2Hb, HHb, COHb, MetHb, tBil) con la tHb determinada sumando los resultados para la O2Hb, la HHb, la COHb y la MetHb. El número de valores ortogonales Y necesarios se determinó mediante la optimización manual del residuo de correlación de las predicciones de sangre de la función de mapeo con los valores del analizador de referencia.

Usando un conjunto de datos de calibración inicial, la secuencia de calibración de un algoritmo de aprendizaje automático establece una relación entre una matriz de características de muestras conocidas (la matriz Y) y una matriz de valores de absorbancia medidos en varias longitudes de onda y posiblemente otros valores medidos según la absorbancia frente a la longitud de onda (la matriz X). Una vez que se establece esta relación, el analizador la usa para predecir los valores de Y desconocidos a partir de nuevas mediciones de X en muestras de sangre completa.

La Tabla 1 resume la configuración y las entradas utilizadas para los modelos optimizados. Los datos X consisten en la absorbancia y otros términos basados en la absorbancia frente a la longitud de onda. En el procedimiento de optimización del modelo, se añadieron derivados de absorbancia frente a longitud de onda. Los modelos para analitos más sensibles a los efectos de dispersión no lineal se construyeron con términos de raíz cuadrada de la absorbancia y su derivada. El modelo para los analitos más afectados por la dispersión tenía un término de corrección proporcional a la cuarta potencia de la longitud de onda. La fila del vector X tiene un valor para cada longitud de onda para cada uno de los tres términos basados en absorbancia  $f$ ,  $g$ , y  $h$  que se muestran en la tabla para cada modelo.

Tabla 1: Parámetros utilizados para construir modelos de algoritmos (procedimiento K-OPLS).

Modelo	Componentes predictivos de Y	Componentes ortogonales de Y	Estructura de datos X (a partir de la absorbancia frente a la longitud de onda)	Exponente polinomial de kernel
tHb, COH b	5	4	$f(\lambda) = \sqrt{\frac{dA(\lambda)}{d\lambda}}, g(\lambda) = \frac{dA(\lambda)}{d\lambda}, h(\lambda) = \sqrt{A(\lambda)}$	0,5
tHb, MetHb	5	4	$f(\lambda) = \frac{dA(\lambda)}{d\lambda}, g(\lambda) = A(\lambda) \cdot \left(\frac{\lambda}{650 \text{ nm}}\right)^4, h(\lambda) = A(\lambda)$	1,0
tBil	5	16	$f(\lambda) = \sqrt{\frac{dA(\lambda)}{d\lambda}}, g(\lambda) = \sqrt{A(\lambda)}, h(\lambda) = A(\lambda)$	1,0

La matriz **Y** del conjunto de calibración se desarrolla de la siguiente manera a partir de los valores conocidos del conjunto de muestras de calibración en n muestras de sangre lisadas:

$$Y = \begin{bmatrix} tHb_1 & COHb_1 & HHb_1 & MetHb_1 & tBil_1 \\ tHb_2 & COHb_2 & HHb_2 & MetHb_2 & tBil_2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ tHb_n & COHb_n & HHb_n & MetHb_n & tBil_n \end{bmatrix}$$

5

donde tHb es el valor de hemoglobina total de la muestra de sangre lisada, COHb es el valor de carboxihemoglobina de la muestra de sangre lisada, HHb es el valor de desoxihemoglobina de la muestra de sangre lisada, MetHb es el valor de metahemoglobina de la muestra de sangre lisada y tBil es el valor de bilirrubina total de la muestra de sangre lisada.

10

La matriz **X** está estructurada de la siguiente manera:

$$X = \begin{bmatrix} f_1(\lambda_1), \dots, f_1(\lambda_n), & g_1(\lambda_1), \dots, g_1(\lambda_n), & h_1(\lambda_1), \dots, h_1(\lambda_n) \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ f_n(\lambda_1), \dots, f_n(\lambda_n), & g_n(\lambda_1), \dots, g_n(\lambda_n), & h_n(\lambda_1), \dots, h_n(\lambda_n) \end{bmatrix}$$

15 donde: *f*, *g*, *h* son las funciones basadas en la absorbancia enumeradas en la Tabla 1 frente a la longitud de onda, respectivamente.

La matriz **X** incluye contribuciones de absorbancia en las diversas longitudes de onda. El alcance de la invención incluye opcionalmente añadir otras mediciones al cálculo para reducir los efectos interferentes.

20

Una vez que se forman estas matrices, se usan como el conjunto de calibración y la función de mapeo se calcula según los procedimientos particulares del algoritmo de aprendizaje automático elegido.

Como se describió anteriormente, se usan mínimos cuadrados parciales convencionales, regresión lineal, álgebra lineal, redes neuronales, splines de regresión adaptativa multivariable, proyección a estructuras latentes, proyección ortogonal basada en kernel a estructuras latentes u otras matemáticas de aprendizaje automático con resultados obtenidos del conjunto de datos de calibración para determinar la relación empírica (o función de mapeo) entre los valores de absorbancia y los parámetros de hemoglobina. Típicamente, para generar resultados, se usa un paquete de matemáticas, donde el paquete en general tiene opciones para seleccionar una de las matemáticas de aprendizaje automático que conocen los expertos en la materia. Existen diversos paquetes matemáticos que incluyen, entre otros, Matlab de MatWorks de Natick, MA, "R" de R Project for Statistical Computing disponible a través de Internet en [www.r-project.org](http://www.r-project.org), Python de Python Software Foundation y disponible a través de Internet en [www.python.org](http://www.python.org) en combinación con el software de extracción de datos Orange de Orange Bioinformatics, disponible a través de Internet en [orange.biolab.si](http://orange.biolab.si), por nombrar algunos.

35

Se mostrará que el procedimiento de proyección ortogonal basado en kernel a estructuras latentes (Kernel-Based Orthogonal Projection to Latent Structures, K-OPLS) se puede usar como un tipo de algoritmo de aprendizaje automático para generar la función de mapeo. Con los antecedentes siguientes, se ejemplifica de mejor manera una explicación y descripción de KOPLS: Johan Trygg y Svante Wold. "Orthogonal projections to latent structures (O-PLS)." J. Chemometrics 2002; 16: 119-128; Mattias Rantalainen y col. "Kernel-based orthogonal projections to latent structures (K-OPLS)." J. Chemometrics 2007; 21: 376-385; y Max Bylesjö y col. "K-OPLS package: Kernel-based orthogonal projections to latent structures for prediction and interpretation in feature space." BMC Bioinformatics 2008, 9:106. Las matemáticas basadas en kernel son útiles para manejar el comportamiento no lineal en los sistemas usando una función de kernel para asignar los datos originales a un espacio de orden superior. Aunque se puede usar cualquiera de las matemáticas de aprendizaje automático descritas anteriormente para permitir que un experto en la materia lleve a la práctica la presente invención, KOPLS tiene una ventaja adicional sobre otros cálculos tales como, por ejemplo, mínimos cuadrados parciales convencionales porque no solo puede establecer una relación entre las variaciones cuantificadas y los valores del analito que se van a determinar, sino que también puede eliminar la variación no cuantificada, pero presente de manera coherente, en los datos originales. Estas variaciones no cuantificadas pueden deberse a los efectos del analizador y/o de la sangre, como las pérdidas de dispersión y otros fenómenos de interferencia que no se miden explícitamente. Al extraer estas variaciones no cuantificadas de los datos, el procedimiento deja atrás en los datos la información utilizada para predecir los valores medidos.

50

Usando un conjunto de datos de entrenamiento inicial, el modelo de KOPLS establece una relación (función de mapeo) entre la matriz de características de muestras conocidas (la matriz H) y una matriz de valores de absorbancia medidos en varias longitudes de onda y posiblemente otros valores medidos basados en la absorbancia versus longitud de onda (la matriz X) como se procesa a través de una función de kernel, como se especifica en el procedimiento de KOPLS. Una vez establecidos los coeficientes de KOPLS de esta relación, el analizador lo usa con la función de kernel para predecir los valores de parámetros de hemoglobina desconocidos a partir de nuevas mediciones de absorbancia en muestras.

10 La función de kernel usada en este ejemplo es una función de kernel lineal simple descrita en el antecedente de Mattias Rantalainen y col. mencionada anteriormente y representada mediante la siguiente ecuación:

$$\kappa(X, X) = \langle X, X \rangle$$

15 donde la matriz de valores medidos X se coloca en la función de kernel y se somete a un procesamiento adicional como se especifica en los antecedentes de KOPLS citados anteriormente para crear los coeficientes de entrenamiento de KOPLS.

Una vez que se establece el conjunto de coeficientes de entrenamiento, o función de mapeo, se usa para predecir los valores de los parámetros de hemoglobina y/o los valores de los parámetros de bilirrubina total de una muestra de sangre a partir de mediciones futuras. Se crea una matriz X de una única fila a partir de las nuevas mediciones, a continuación, el valor de esta matriz X de una única fila se envía a kernel y las funciones de mapeo para producir los valores de parámetros de hemoglobina y/o los valores de parámetros de bilirrubina total según los procedimientos necesarios para la función de mapeo usada según los procedimientos de KOPLS descritos detalladamente en los antecedentes de KOPLS descritos anteriormente.

Los datos recopilados de las muestras de sangre descritas anteriormente se envían al procedimiento de KOPLS en un procedimiento de validación cruzada. La validación cruzada es un procedimiento por el que se usa un conjunto de datos para someter a prueba un procedimiento. Se reservan varias filas de datos y el resto se usa para crear una función de mapeo. Los valores reservados se usan, a continuación, como mediciones "nuevas" y se calculan sus valores de la matriz Y. Este procedimiento se repite reservando otros valores medidos y calculando otra función de mapeo. Al trazar los valores conocidos de los datos de sangre frente a los calculados, se puede determinar la efectividad del procedimiento inspeccionando el gráfico.

35 Ahora con respecto a las Figuras 18-23, se ilustran gráficos de los resultados de correlación que comparan los diversos parámetros de hemoglobina de la sangre lisada con la sangre total utilizando el procedimiento KOPLS. Las muestras de sangre se manipularon para abarcar un amplio intervalo de valores de analito. Se usó la técnica de validación cruzada de n veces usando 60 veces para probar los datos. En esta técnica, el conjunto de datos se divide en n=60 conjuntos separados, y el modelo se realiza a partir de n-1 de los conjuntos, y el conjunto restante se predice utilizando el modelo. El procedimiento se repite 60 veces para cada grupo. Por consiguiente, cada punto de datos se predice utilizando un modelo hecho a partir de la mayoría de los otros puntos de datos, sin incluirse en el modelo.

La Fig. 19 muestra los resultados de correlación para la tHb utilizando el procedimiento K-OPLS. El eje horizontal tiene unidades que representan la hemoglobina total en gramos por decilitro de sangre lisada. El eje vertical tiene unidades que representan la hemoglobina total en gramos por decilitro de sangre completa. Como se puede observar en el gráfico, el procedimiento para determinar la tHb de una muestra de sangre completa tiene una correlación superior al 99 %.

La Fig. 20 muestra los resultados de correlación para la O2Hb utilizando el procedimiento K-OPLS. El eje horizontal tiene unidades que representan el porcentaje de oxihemoglobina de la sangre lisada. El eje vertical tiene una unidad que representa el porcentaje de oxihemoglobina de la sangre completa. Como se ve en el gráfico, el procedimiento de determinación de la O2Hb de una muestra de sangre completa tiene una correlación superior al 99 %.

La Fig. 21 muestra los resultados de correlación para la carboxihemoglobina usando el procedimiento K-OPLS. El eje horizontal tiene unidades que representan el porcentaje de carboxihemoglobina de la sangre lisada. El eje vertical tiene una unidad que representa el porcentaje de carboxihemoglobina de la sangre completa. Como se ve en el gráfico, el procedimiento para determinar la COHb de una muestra de sangre completa tiene una correlación superior al 99 %.

La Fig. 22 muestra los resultados de correlación para la desoxihemoglobina utilizando el procedimiento K-OPLS. El eje horizontal tiene unidades que representan el porcentaje de desoxihemoglobina de la sangre lisada. El eje vertical

tiene una unidad que representa el porcentaje de desoxihemoglobina de la sangre completa. Como se ve en el gráfico, el procedimiento para determinar la HHb de una muestra de sangre completa tiene una correlación superior al 99 %.

La Fig. 23 muestra los resultados de correlación para la metahemoglobina utilizando el procedimiento K-OPLS. El eje horizontal tiene unidades que representan el porcentaje de metahemoglobina de la sangre lisada. El eje vertical tiene una unidad que representa el porcentaje de metahemoglobina de la sangre completa. Como se ve en el gráfico, el procedimiento para determinar la MetHb de una muestra de sangre completa tiene una correlación superior al 99 %.

La Fig. 24 muestra los resultados de correlación para la tBil utilizando el procedimiento K-OPLS. El eje horizontal tiene unidades que representan la bilirrubina total en miligramos por decilitro de sangre lisada. El eje vertical tiene unidades que representan la bilirrubina total en miligramos por decilitro de sangre completa. Como se puede observar en el gráfico, el procedimiento para determinar la tBil de una muestra de sangre completa tiene una correlación superior al 99 %.

A continuación, se describirá un procedimiento para realizar una medición de sangre completa mediante el uso del subsistema analizador de COOx 10. Un barrido de absorbancia se mide registrando primero un barrido de la intensidad de luz transmitida con el módulo de cubeta 43 lleno de un fluido transparente como agua o solución de lavado del analizador, también conocido como barrido "en blanco". A continuación, se registra un barrido de la intensidad de luz transmitida con el módulo de cubeta 43 lleno con la muestra de sangre completa. Después de las correcciones para la respuesta oscura del espectrómetro y la linealidad del detector, la absorbancia espectral es el negativo del logaritmo respecto a la base diez de la relación del barrido de sangre completa respecto al barrido de fluido transparente calculada en cada longitud de onda en el intervalo de medición.

Más específicamente, en las Fig. 1-18, se muestra una representación de los componentes de un subsistema analizador de COOx. Esta realización del subsistema mide la absorbancia óptica de los líquidos introducidos en el módulo de cubeta 43. La luz utilizada para realizar la medición de absorbancia se origina en la fuente de luz LED 28, se recoge y transmite mediante la lente de colimación 30, pasa a través del primer difusor 32, el polarizador circular 34, la lente de enfoque 36 y la ventana protectora opcional 38 antes de llegar al módulo de cubeta 43. El conocimiento de la longitud de la trayectoria de la cubeta es fundamental para una medición de la absorbancia absoluta. La longitud de la trayectoria de la cubeta se mide previamente para cada módulo de cubeta individual 43 y se programa en un chip electrónico 48c en el módulo de cubeta 43. Siempre que sea necesario, el módulo procesador de datos 130 del analizador lee/recupera la información de la longitud de la trayectoria.

Después de pasar a través del módulo de cubeta 43, la lente 66 recoge la luz, la colima y la envía a través del segundo difusor 68 y el divisor de haz 69. El propósito del divisor de haz 69 es permitir que la luz de la fuente de luz de calibración 72 (por ejemplo, una lámpara de descarga de gas de criptón), que la lente 74 colimó, entre en la trayectoria óptica 21. La fuente de luz de calibración 72 proporciona luz a unas pocas longitudes de onda conocidas, que se utilizan para recalibrar periódicamente la escala de longitud de onda del módulo del espectrómetro 100. Después de pasar a través del divisor de haz 69, la lente 82 enfoca la luz sobre una fibra óptica 92. La fibra óptica 92 guía la luz a la hendidura de entrada 114 del módulo del espectrómetro 100. La luz pasa a través de una lente acromática 124 y, a continuación, a través del elemento dispersor de luz 130 con una parte posterior reflectante 132. La luz se dispersa en longitud de onda al pasar a través del elemento dispersor de luz 130 tal como, por ejemplo, el prisma 130, a continuación, hace un paso de retorno a través de la lente 124, que vuelve a enfocar la luz en los píxeles del detector de la matriz de luz 116. El detector de la matriz de luz 116 convierte la energía luminosa en una señal eléctrica que representa la intensidad espectral de la luz. La señal eléctrica se envía al módulo procesador de datos 150 para su posterior procesamiento y visualización de los resultados finales por parte del usuario. El conjunto de recepción y conversión de luz 110 es una sola placa que mantiene la hendidura de entrada 114 y el detector de matriz de luz 116 en estrecha proximidad como un conjunto integrado.

La hendidura de entrada 114 se aplica directamente sobre el mismo sustrato de placa de circuito 112 y muy cerca del detector de matriz de luz 116. Otros espectrómetros de la técnica anterior sitúan estos componentes en planos separados donde tienen estructuras de montaje separadas que necesitan un ajuste y alineación independientes. El esquema de montaje tiene varias ventajas que reducen el costo y el tamaño del módulo del espectrómetro 100: 1) se impide el costo de las estructuras de montaje separadas, 2) la hendidura de entrada 114 se puede grabar con láser en una posición precisa con respecto al detector de matriz de luz 116, lo que hace que la alineación sea menos laboriosa, 3) se puede utilizar una óptica de superficie esférica económica en el sistema óptico ya que la imagen de la hendidura en el detector está solo ligeramente fuera del eje del eje central del sistema óptico, lo que minimiza la aberración, y 4) un único procedimiento de alineación para un conjunto unificado de hendidura y detector reemplaza los procedimientos de alineación para dos conjuntos separados.

Es importante tener en cuenta que el primer difusor 32 y el segundo difusor 68 se posicionan antes y después del

módulo de cubeta 43, respectivamente. La medición de la absorbancia óptica de una muestra difusa presenta un problema único. La transmitancia difusa de la muestra distorsiona la distribución de luz espacial inicial del sistema de medición como consecuencia de la falta de uniformidad típica de las fuentes de luz. Por consiguiente, la distribución espacial de la luz del barrido "en blanco" puede ser muy diferente del barrido de muestras de sangre completa. Como  
5 los detectores ópticos tienen una respuesta que varía espacialmente, la respuesta puede variar debido a los cambios en la distribución espacial de la luz incidente, incluso si la intensidad general no ha cambiado. Un barrido de absorbancia que se basa en la relación del barrido de la muestra respecto al barrido en blanco tendrá un componente de absorbancia significativo debido a este efecto, además de la absorbancia debido a la muestra por sí sola. Esto da lugar a un error de medición significativo de la absorbancia de la muestra que es intolerable para la cooximetría.

10

La ventaja de colocar el módulo de cubeta 43 entre el primero y el segundo difusor 32, 68 es que la distribución de luz espacial aparecerá igual para los barridos en blanco y de muestras, eliminando este efecto de error. Los difusores 32, 68 se eligen especialmente para que difundan un rayo de luz incidente en el cono de aceptación total del sistema óptico, pero no más, de modo tal que se pueda preservar la mayor cantidad de rendimiento de luz posible mientras se  
15 mezcla el rayo de luz completamente a través del campo.

Aunque las realizaciones preferidas de la presente invención se describieron en esta invención, la descripción anterior es meramente ilustrativa. La modificación adicional de la presente invención descrita en esta solicitud se producirá para los expertos en las técnicas respectivas y se considera que todas estas modificaciones se encuentran dentro del  
20 alcance de la invención como se define en las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Un módulo de muestras ópticas (20) capaz de instalarse en un sistema de COOx que mide parámetros de hemoglobina en sangre completa o parámetros de bilirrubina en sangre completa, comprendiendo el módulo de muestras ópticas (20) un módulo de luz de calibración (60) y un conjunto de cubeta (40) que tiene una cámara de recepción de muestras (54) adaptada para recibir una muestra de sangre completa,
- comprendiendo el módulo de luz de calibración (60):
- 10 una carcasa de módulo de calibración (62);  
una porción de recepción de haz de luz (64) conectada a un primer extremo de la carcasa de módulo de calibración (62), estando la porción de recepción de haz de luz (64) alineada con un haz de luz de un módulo emisor de luz (22) que define una trayectoria óptica (21) del sistema de COOx;
- 15 una porción de luz de calibración (70) que tiene una fuente de luz de calibración (72) que está configurada para dirigir una luz de calibración (72a) transversalmente hacia la trayectoria óptica (21);  
un divisor de haz (69) dispuesto en la trayectoria óptica (21) y posicionado para recibir la luz de calibración (72a) de la porción de luz de calibración (70) y para dirigirla hacia la trayectoria óptica (21) y a lo largo de la misma; y  
una porción de fibra óptica (80) en un segundo extremo de la carcasa de módulo de calibración (62) y que incluye un conjunto de conector de fibra óptica (84) con una carcasa de conector (86) adaptada para recibir un conjunto de fibra óptica (90) para conectar ópticamente el módulo de muestras ópticas (20) a un módulo de espectrómetro (100) del sistema de COOx, por lo que el divisor de haz (69) está dispuesto entre la porción de recepción de haz de luz (64) y la porción de fibra óptica (80) y dirige la luz de calibración (72a) hacia la porción de fibra óptica (80), donde
- 25 la cámara de recepción de muestras (54), la carcasa de módulo de calibración (62), la porción de recepción de haz de luz (64) y la porción de fibra óptica (80) se colocan dentro de la trayectoria óptica (21) y la porción de luz de calibración (70) se separa de la trayectoria óptica (21), y donde el módulo de luz de calibración (60) se dispone aguas abajo del conjunto de cubeta (40) a lo largo de la trayectoria óptica (21).
- 30
2. El módulo de muestras ópticas (20) según la reivindicación 1, donde la carcasa de módulo de calibración (62) incluye un primer conducto tubular (62a) que se extiende del primer extremo al segundo extremo.
3. El módulo de muestras ópticas (20) según la reivindicación 2, donde el primer extremo tiene una abertura de entrada de haz de luz (62b) y el segundo extremo tiene una abertura de salida de haz de luz (62c).
4. El módulo de muestras ópticas (20) según cualquiera de la reivindicación anterior, donde la carcasa de módulo de calibración (62) tiene un segundo conducto tubular (62d) que es transversal y se interseca con el primer conducto tubular (62a).
- 40
5. El módulo de muestras ópticas (20) según cualquiera de la reivindicación anterior, donde la fuente de luz de calibración (72) tiene una o más longitudes de onda de luz conocidas.
6. El módulo de muestras ópticas (20) según cualquiera de la reivindicación anterior, donde la carcasa de módulo de calibración (62) tiene un difusor óptico (68) dispuesto en la trayectoria óptica (21) aguas abajo de la porción de recepción de haz de luz (64) pero aguas arriba del divisor de haz (69).
- 45
7. El módulo de muestras ópticas (20) según cualquiera de la reivindicación anterior, donde la carcasa de módulo de calibración (62) tiene una lente de colimación (74) dispuesta entre un divisor de haz (69) y la porción de luz de calibración (70) y colocada para recibir una luz de calibración (72a) de la porción de luz de calibración (70).
- 50
8. El módulo de muestras ópticas (20) según cualquiera de la reivindicación anterior, donde la carcasa de módulo de calibración (62) tiene una lente de enfoque (82) dispuesta entre un divisor de haz (69) y la porción de fibra óptica (80).
- 55
9. El módulo de muestras ópticas (20) según cualquiera de la reivindicación anterior, donde la porción de recepción de haz de luz (64) tiene una lente de colimación (66) dispuesta dentro de la trayectoria óptica (21).
10. El módulo de muestras ópticas (20) según la reivindicación 1, donde el módulo de espectrómetro (100) es un espectrómetro de prisma, donde el conjunto de fibra óptica (90) incluye una fibra óptica (92) que tiene un extremo receptor de luz (92a) conectado a la carcasa de conector (86) del conjunto de conector de fibra óptica (84) y un extremo
- 60

emisor de luz (92b) para emitir luz recibida por el espectrómetro de prisma, y donde una apertura numérica de la fibra óptica es 0,22 para adaptarse a una apertura numérica del espectrómetro de prisma que es 0,1.

11. El módulo de muestras ópticas (20) según la reivindicación 1, donde el conjunto de fibra óptica (90)  
5 incluye una fibra óptica (92) que tiene un diámetro de 200  $\mu\text{m}$  que se configura para sobrellenar los píxeles de un detector de matriz de luz (116) del módulo de espectrómetro (100) en una formación de imágenes uno a uno para el detector de matriz de luz (116).

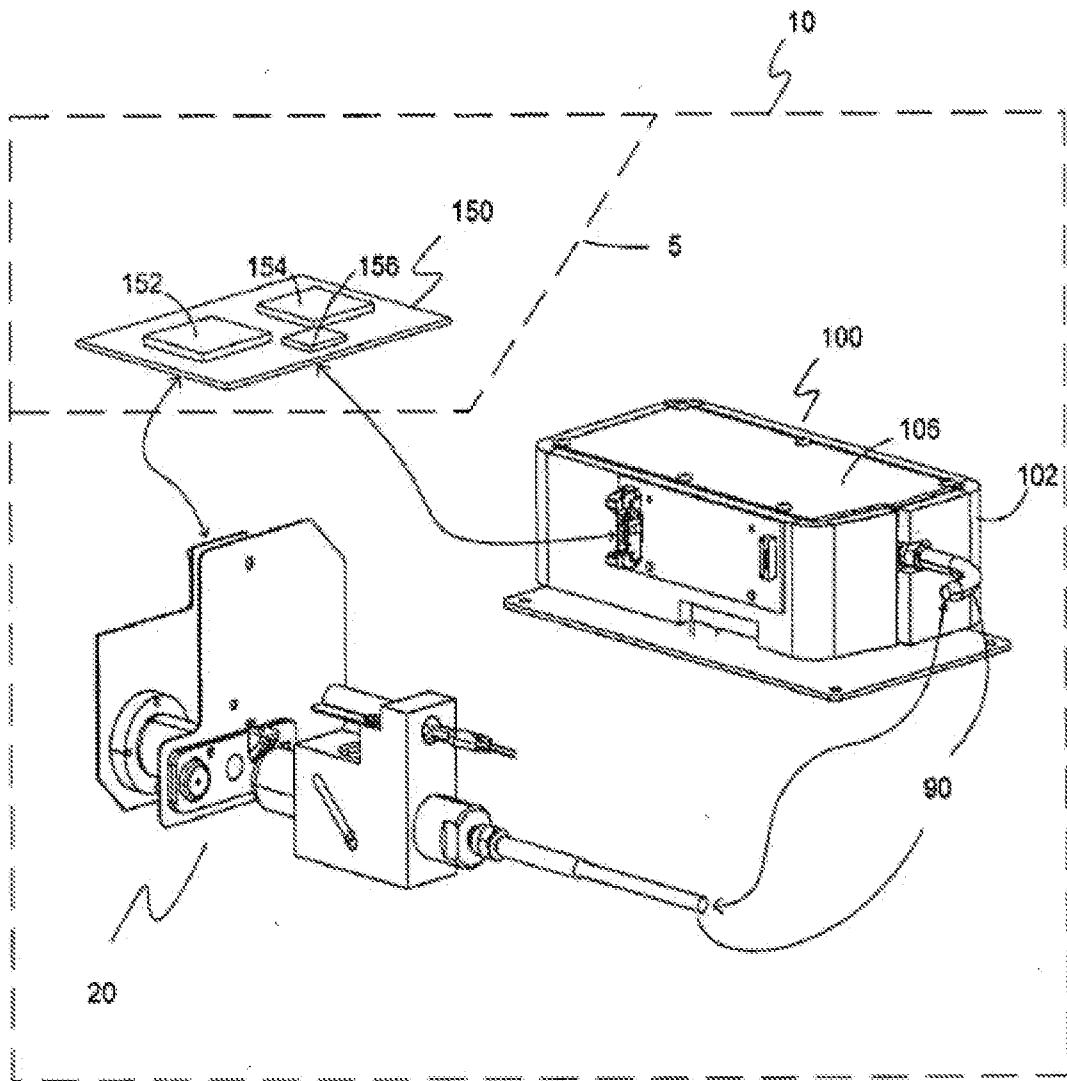


Fig. 1

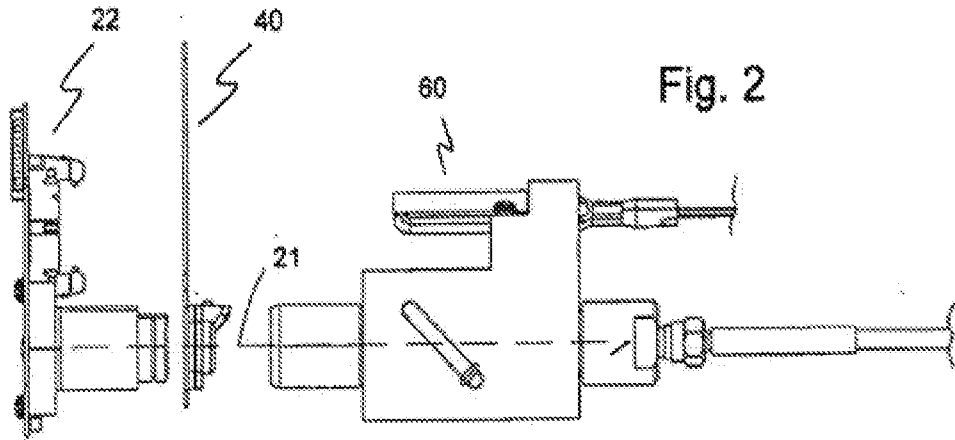


Fig. 2

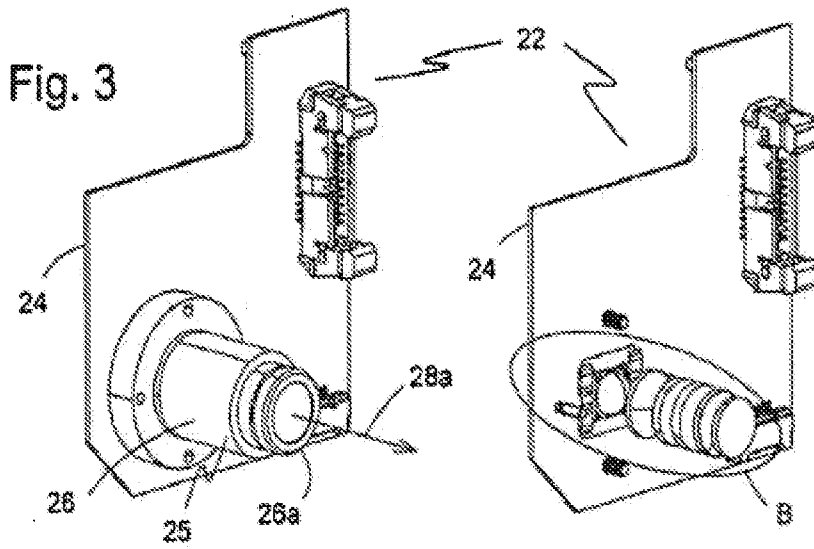


Fig. 3

Fig. 3A

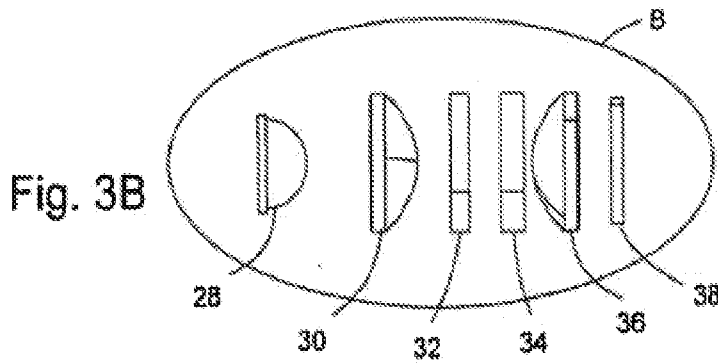


Fig. 3B

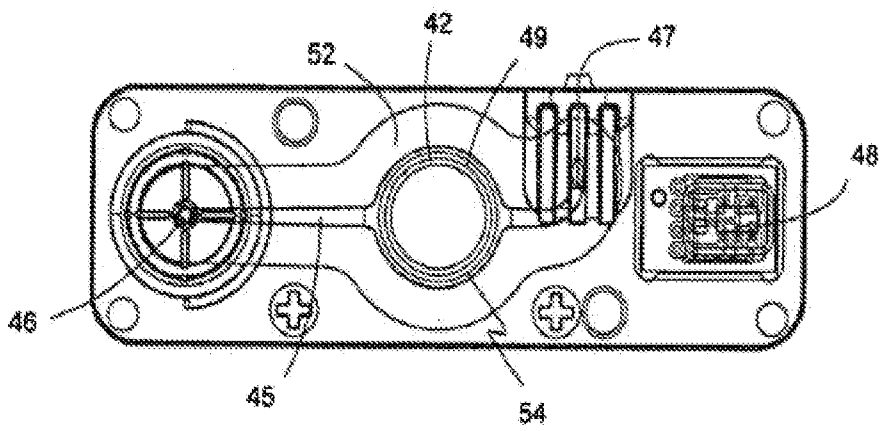
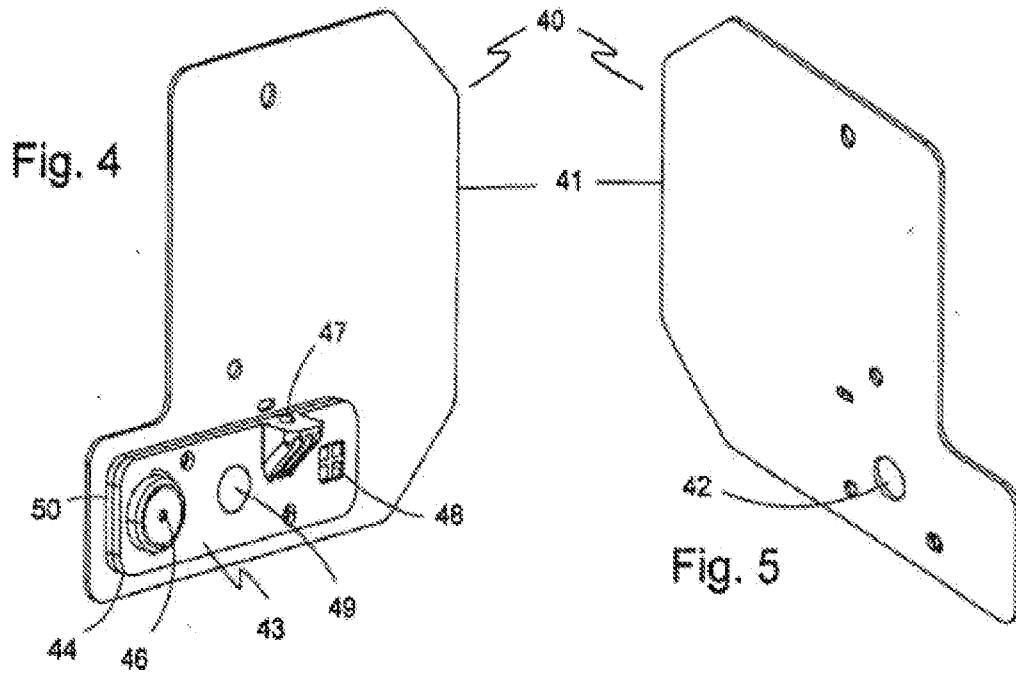
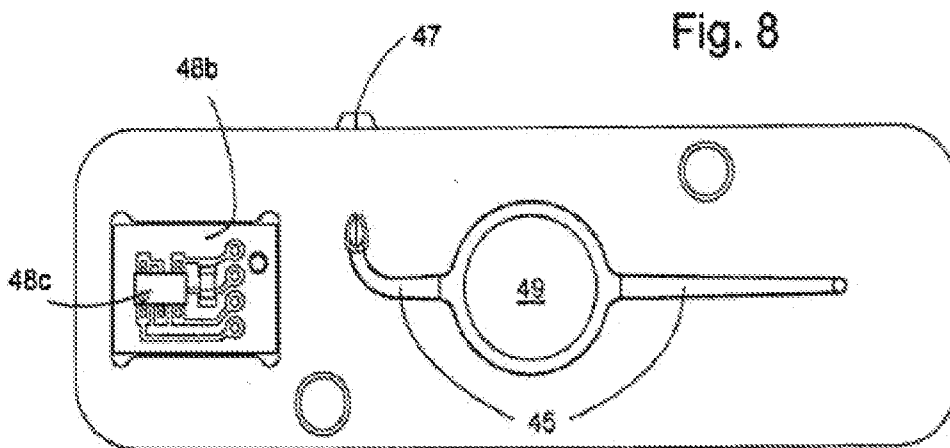
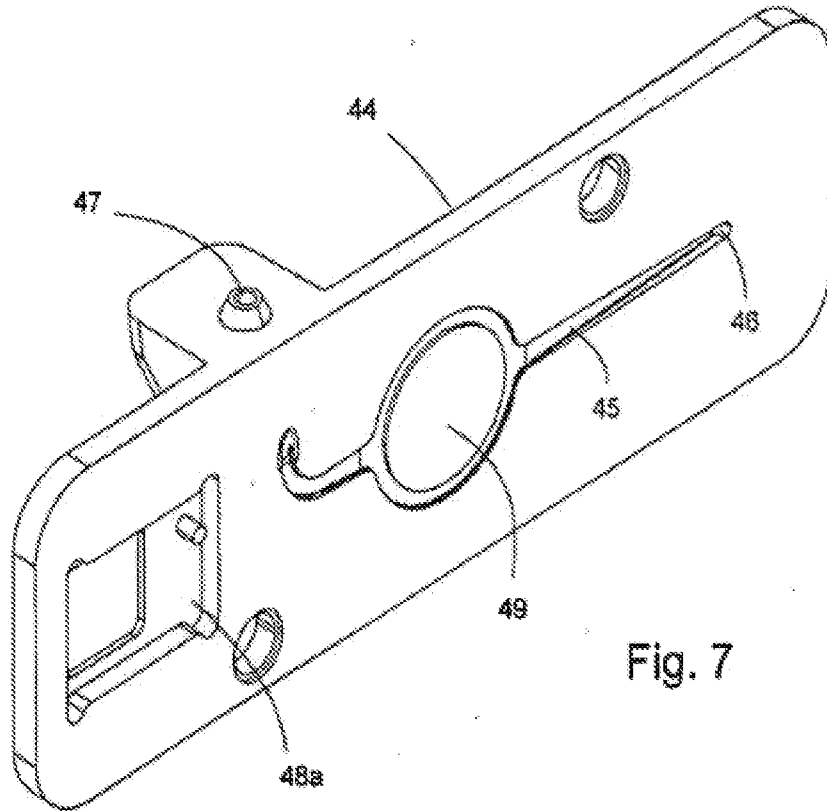


Fig. 6



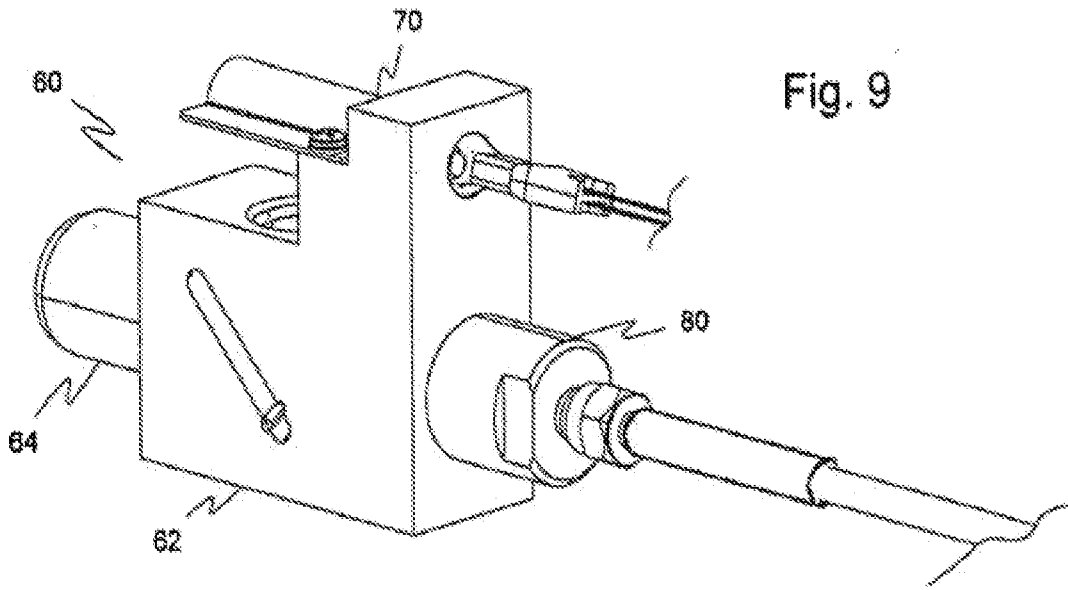


Fig. 9

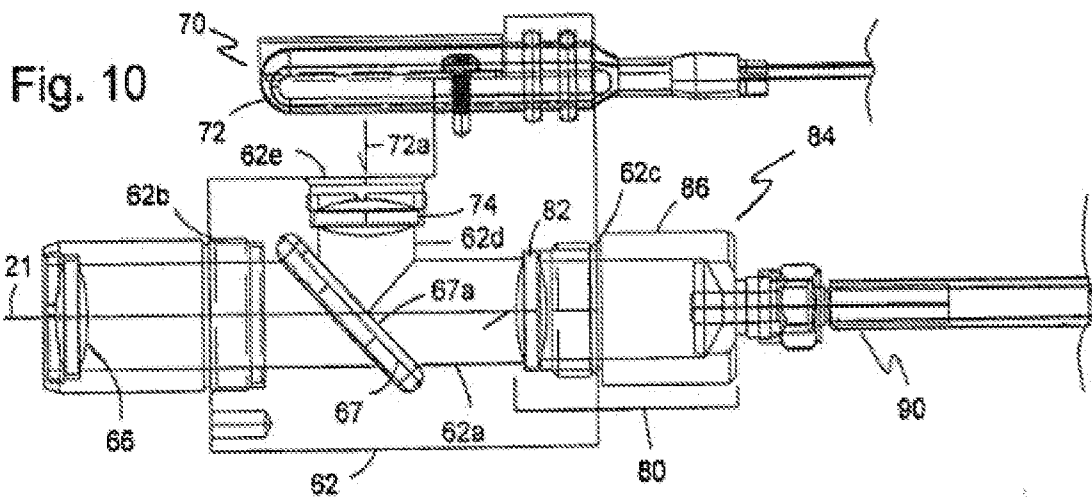


Fig. 10

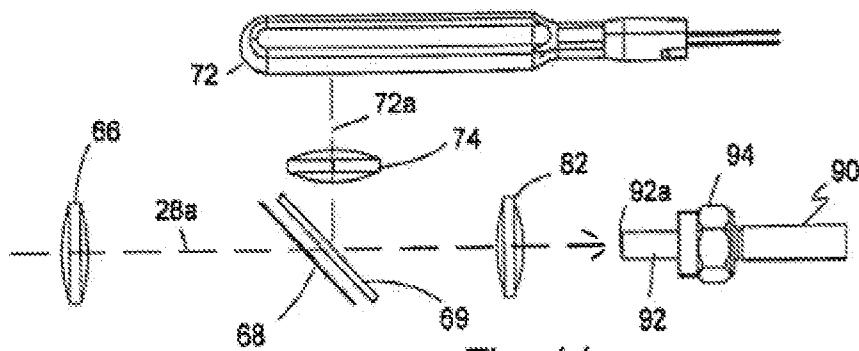


Fig. 11

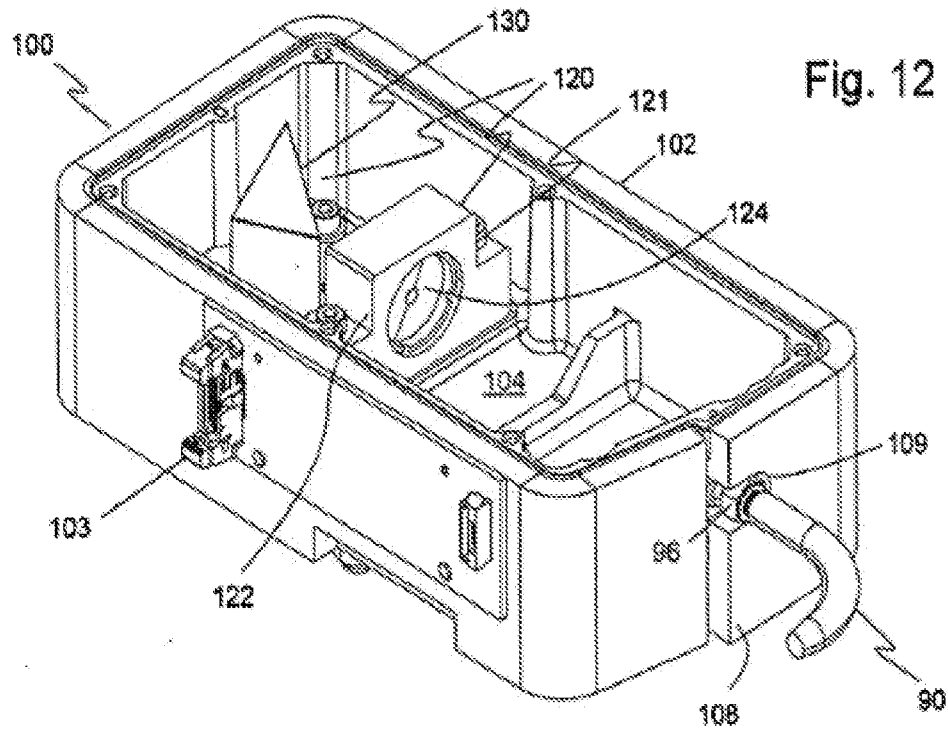


Fig. 12

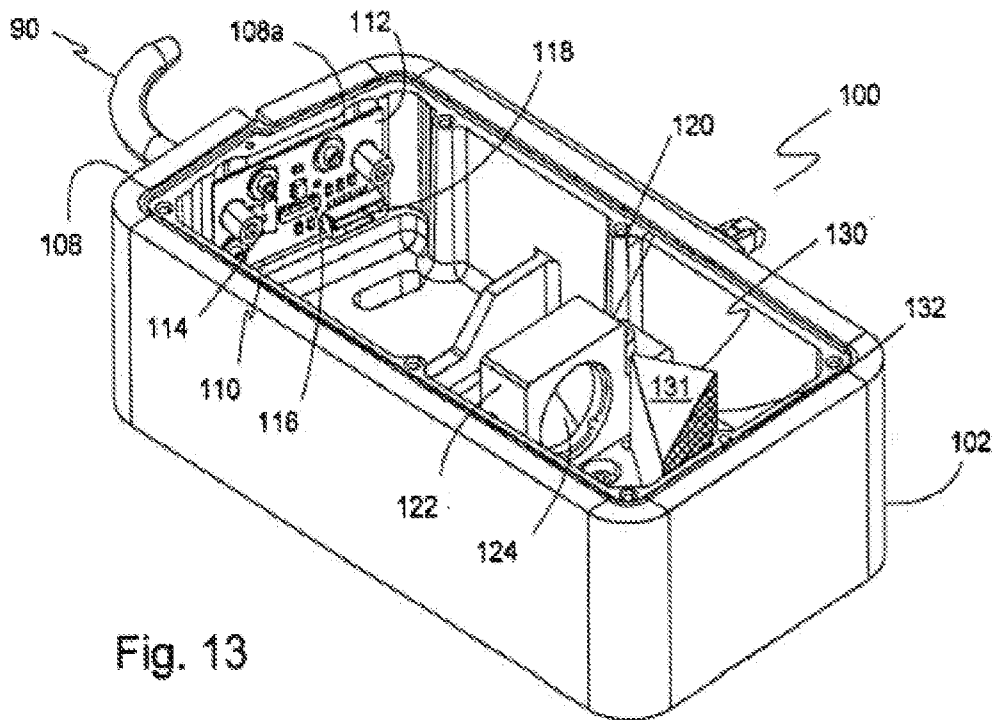


Fig. 13

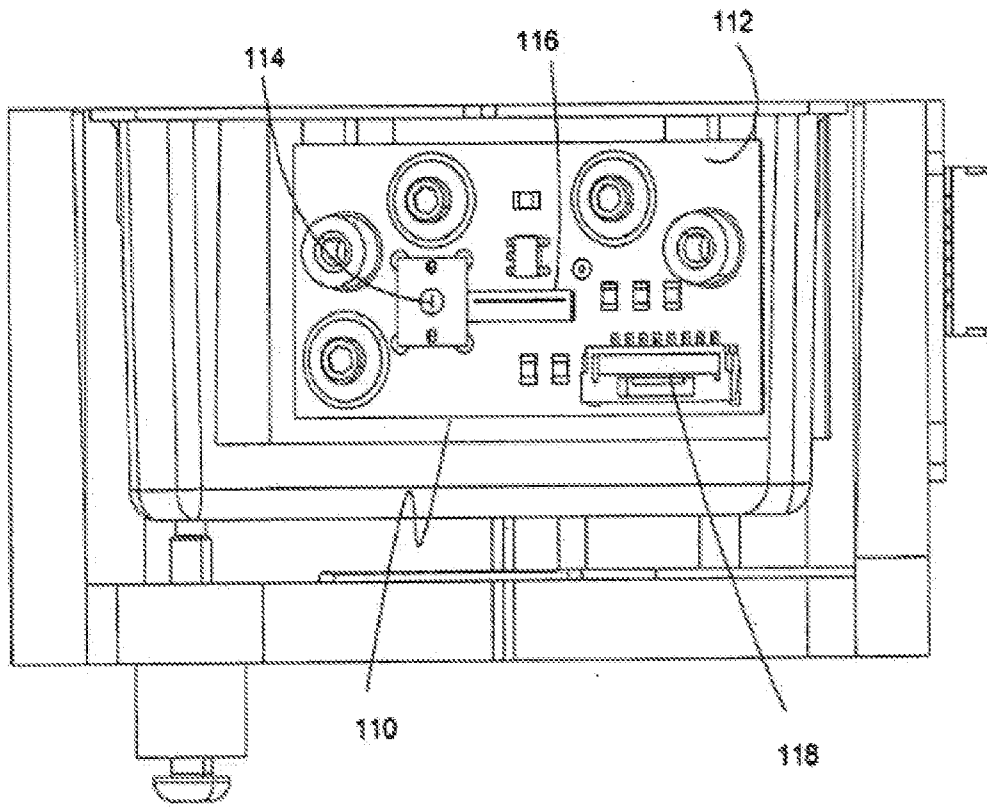


Fig. 14

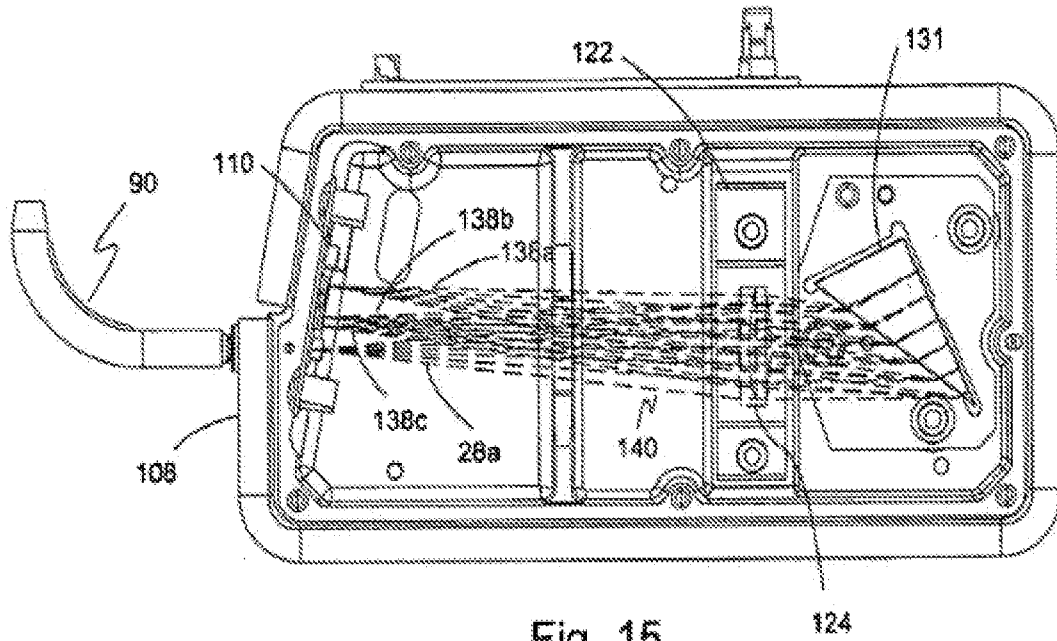


Fig. 15

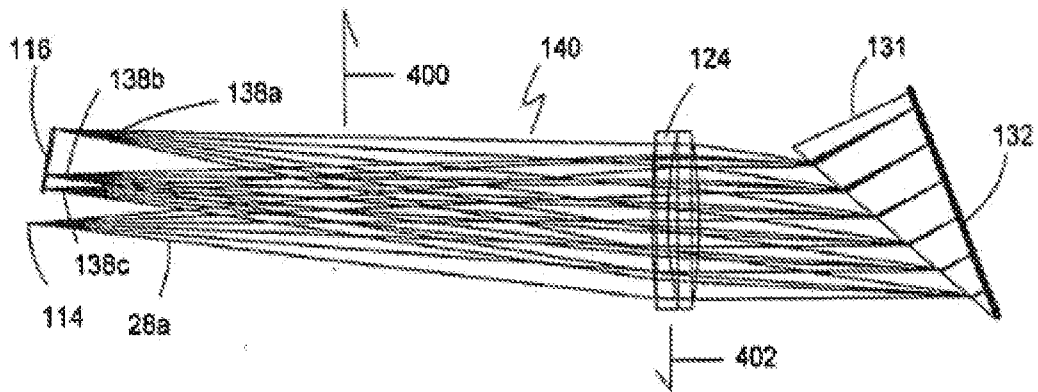


Fig. 16

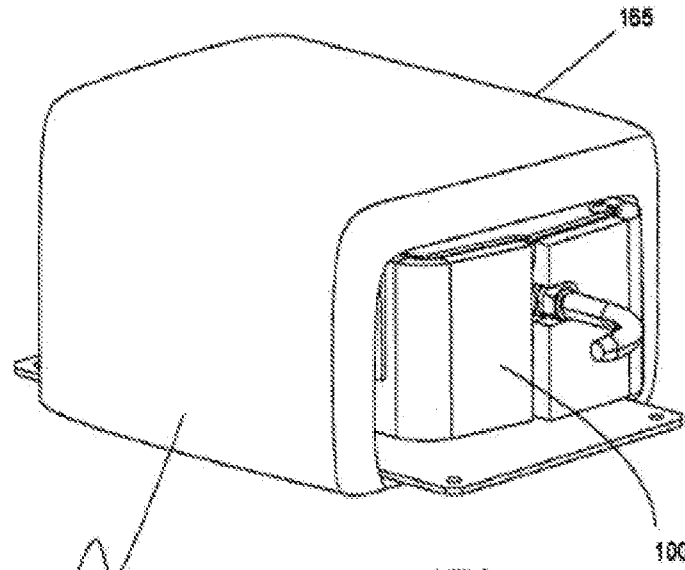


Fig. 17A

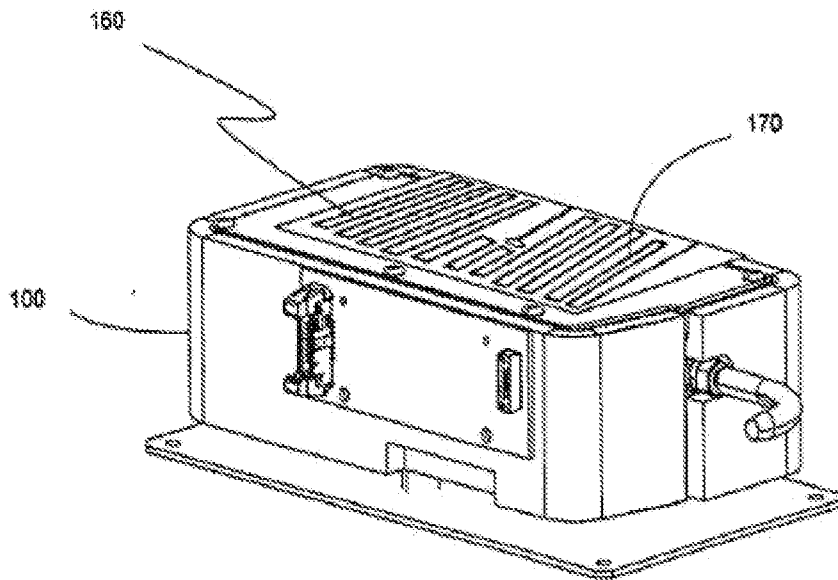


Fig. 17B

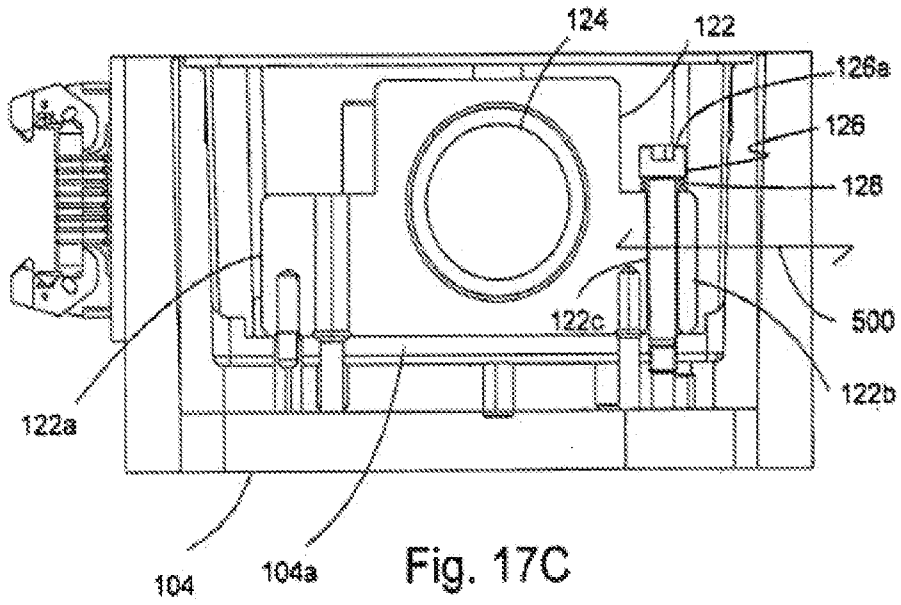


Fig. 17C

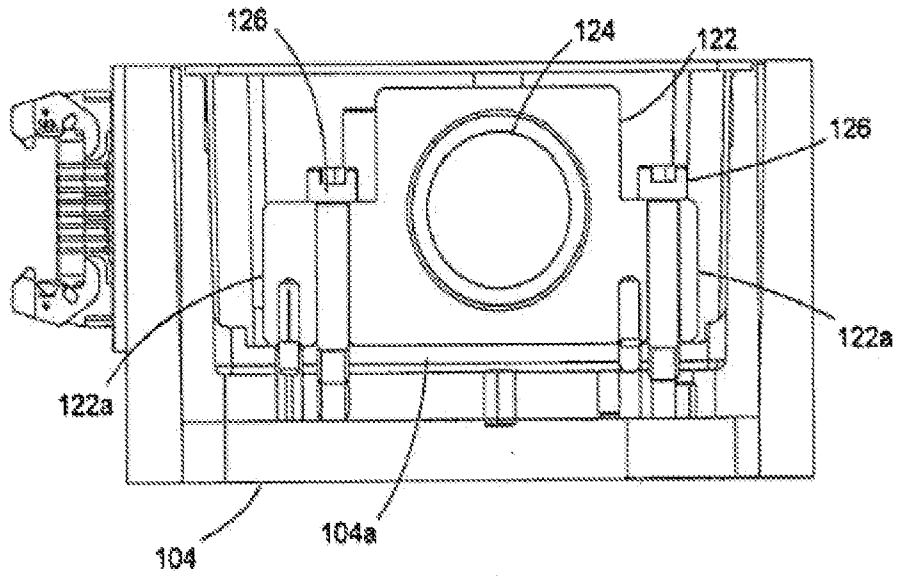


Fig. 18

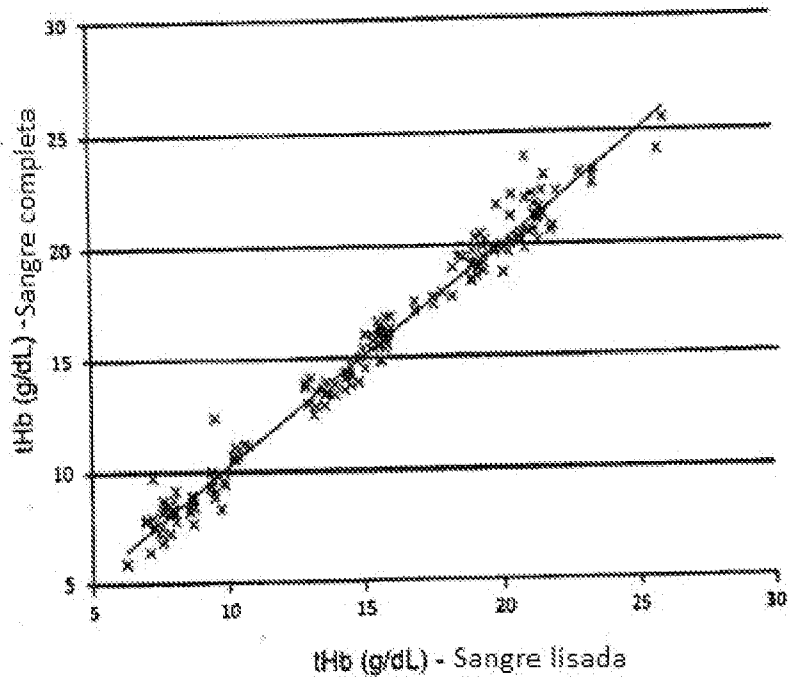


Fig. 19

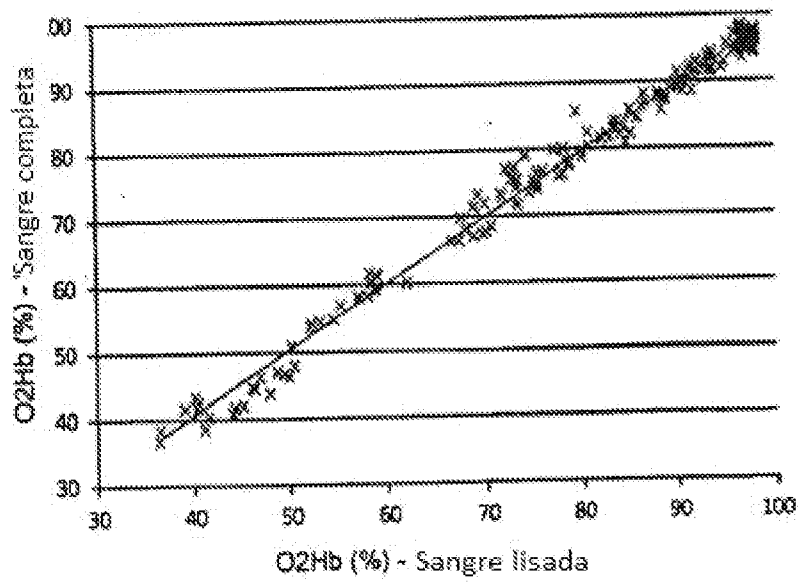


Fig. 20

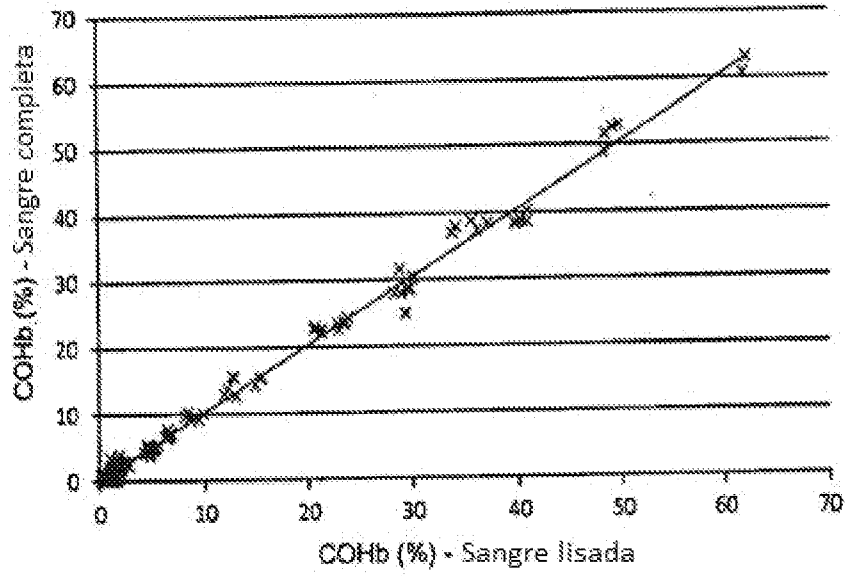


Fig. 21

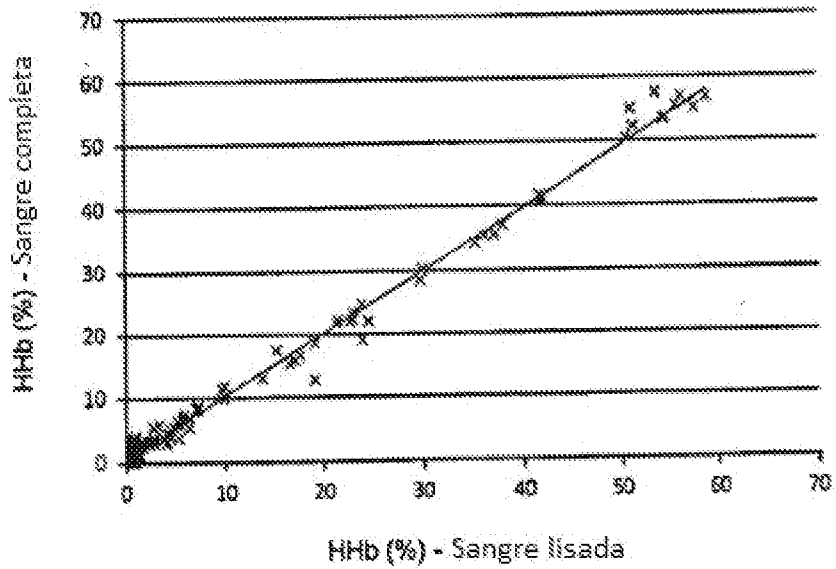


Fig. 22

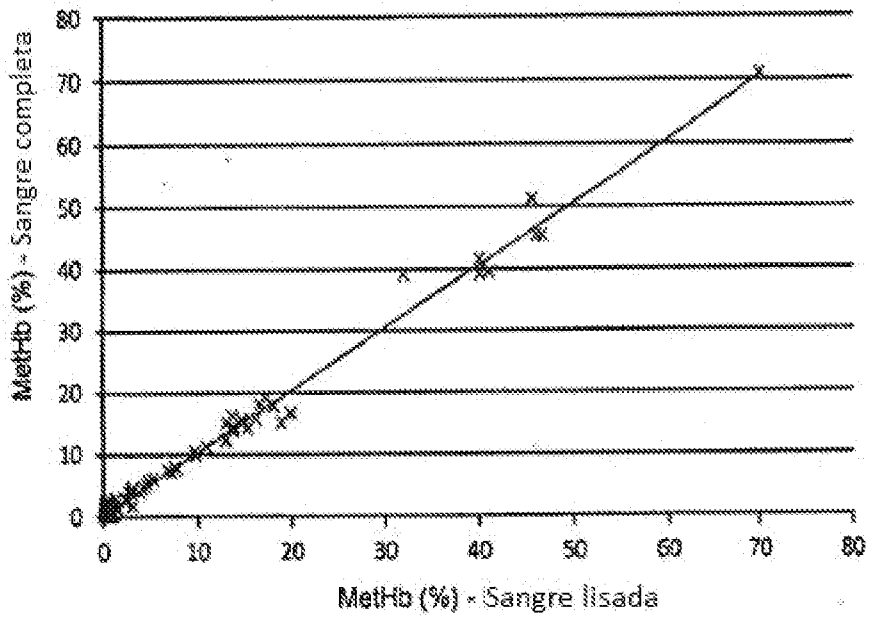


Fig. 23

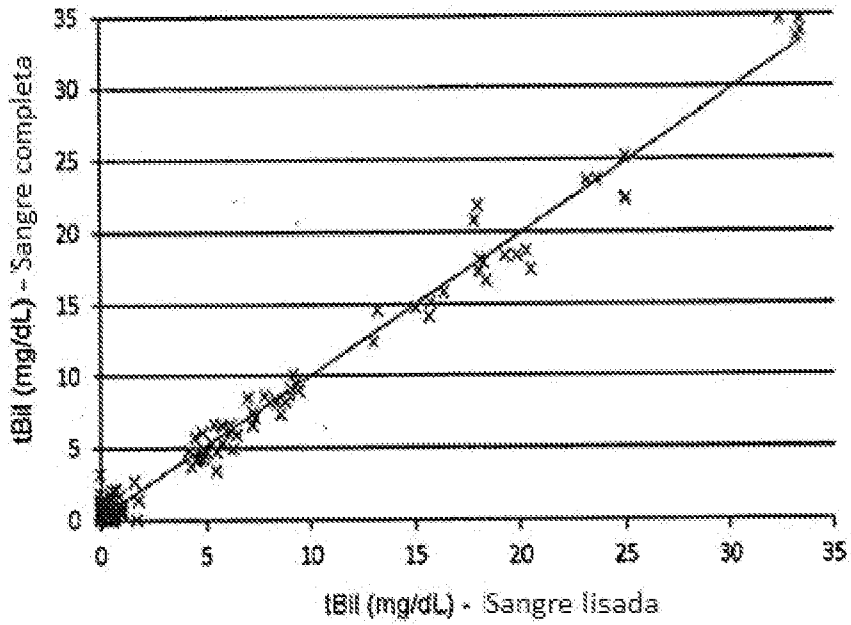


Fig. 24