



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 354 977**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/00** (2006.01)

**G01N 33/49** (2006.01)

**G01N 33/86** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04027940 .8**

96 Fecha de presentación : **25.11.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1547689**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.06.2005**

54 Título: **Cartucho para el control del funcionamiento de un dispositivo para el análisis de la función de plaquetas sanguíneas, método para el control del funcionamiento y empleo de un líquido de prueba.**

30 Prioridad: **23.12.2003 DE 103 60 814**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**21.03.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**21.03.2011**

73 Titular/es: **SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS  
PRODUCTS GmbH  
Görzhäuser Hof Emil-von-Behring-Strasse 76  
35041 Marburg, DE**

72 Inventor/es: **De Haan, Jacob**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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

**CARTUCHO PARA EL CONTROL DEL FUNCIONAMIENTO DE UN DISPOSITIVO PARA EL ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN DE PLAQUETAS SANGUÍNEAS, MÉTODO PARA EL CONTROL DEL FUNCIONAMIENTO Y EMPLEO DE UN LÍQUIDO DE PRUEBA**

5 La presente invención hace referencia a un cartucho para el control del funcionamiento de un dispositivo para el análisis de la función de plaquetas sanguíneas, con una carcasa que comprende una cámara de prueba y una cámara de retención, y un método para el control del funcionamiento de un dispositivo de esta clase, así como el empleo de un líquido de prueba en el dispositivo.

10 En un dispositivo para el análisis automatizado de la función de plaquetas sanguíneas, se emplean cartuchos de prueba que contienen elementos de separación bioactivos porosos. Con el dispositivo se efectúan análisis o pruebas del proceso coagulante de la sangre mediante la función de las plaquetas sanguíneas, donde algunos o todos los pasos de un análisis se desarrollan automáticamente.

15 La hemostasia o función hemostática comprende la combinación de dos sistemas bioquímicos que se controlan mediante diferentes factores de proteínas y componentes celulares, por ejemplo, plaquetas sanguíneas. Los procesos mediante los cuales la sangre coagula contienen, de acuerdo con lo que se comprende actualmente, una cascada con múltiples etapas de activaciones de los factores de proteínas que culminan en la formación de fibrina. Se han desarrollado diferentes pruebas para probar las etapas individuales de dicha cascada y para poder determinar si la sangre de un paciente puede coagular correctamente, o si existe un trastorno de la coagulación con una deficiencia en uno o varios de los factores necesarios para la coagulación de la sangre. Se sabe que el estado de las plaquetas sanguíneas o la función de las plaquetas sanguíneas otorgan una indicación a cerca de la capacidad de la sangre para coagular correctamente.

25 La prueba para el análisis de la función de plaquetas o de la hemostasia primaria en la sangre total humana, se conoce como prueba de tiempo de hemorragia. La prueba del tiempo de hemorragia que se ha utilizado durante varias décadas, consiste en una incisión en el antebrazo del paciente. Para evitar una incisión, se ha desarrollado otra prueba que puede realizar el diagnóstico de plaquetas sanguíneas de manera esencialmente exacta.

30 Las patentes estadounidenses 4 604 804, 4 780 417 y 5 051 239 revelan un sistema de prueba que se puede utilizar para realizar una prueba in vitro con sangre, que se pueden correlacionar exactamente y de forma reproducible con la prueba de tiempo de hemorragia in vivo descrita anteriormente. El dispositivo Thrombostat™ 4000 es un sistema de esta clase. La función de las plaquetas sanguíneas se evalúa en dicho sistema, en tanto que las muestras anticoagulantes de sangre completa se aspiran con una presión negativa permanente a través de una abertura pequeña que se encuentra en el centro de una pared de separación, que puede ser porosa o no porosa. En el caso de sistemas en los que la pared de separación sea porosa, antes de comenzar con la prueba, ésta se humedece con un agente activador que activa la coagulación de las plaquetas sanguíneas. En la abertura se forma un tapón de trombocitos y se mide el tiempo necesario para la detención del flujo de sangre. Dicho tiempo se correlaciona entonces con la función de las plaquetas sanguíneas.

40 El dispositivo utilizado con el Thrombostat™ 4000 se conforma de tres partes separadas: una cámara de prueba o reactiva, un tubo capilar y una cubeta de muestra. Una pared de separación porosa, que contiene colágeno, se encuentra en la cámara de prueba o reactiva. La cámara de prueba o reactiva se debe conservar en un envoltorio hermético, separado del tubo capilar y de la cubeta de muestra, para conservar la estabilidad del colágeno durante el tiempo de almacenamiento indicado. El tubo capilar y la cámara de prueba o reactiva deben ser unidos manualmente por la persona operadora para comenzar con cada prueba a realizar. Además, la muestra a probar en la cubeta de muestra se debe pipetear e incubar, antes de que la cubeta de muestra se pueda unir con el tubo capilar y la cámara de prueba o reactiva. Además, el tiempo para la etapa de incubación es determinado manualmente por la persona operadora. La etapa de incubación separada requiere de una manipulación adicional después del período de incubación, cuando la persona operadora introduce manualmente en la cubeta de muestra el tubo capilar y la cámara de prueba o reactiva unidos, y cuando inicia la secuencia de prueba. Al finalizar la prueba, el costoso tubo capilar se utiliza nuevamente y, por lo tanto, se debe limpiar tomando un tiempo considerable.

55 Para evitar dicha desventaja, se conoce de la patente EP 0 716 745 B1 un cartucho en el que el usuario ya no debe intervenir durante el ciclo de prueba. Dicho cartucho de prueba no requiere de mecanismos complejos de manipulación de muestras, para este un envoltorio hermético exterior separado para la cámara de prueba o reactiva durante el transporte y el almacenamiento está de más, y se provee para un único uso. El cartucho de prueba es adecuado en general para sistemas de

prueba, en los que determinados componentes/reactivos se conservan separados o se combinan entre sí justo en el momento adecuado.

Los complejos procesos en la hemostasia primaria, conducen mediante adhesión y agregación de trombocitos a la formación de tapones. El tiempo, que se requiere bajo condiciones estandarizadas, se mide mediante dispositivos conocidos. El resultado de la medición del tiempo es el llamado tiempo de obturación que se indica en segundos. Dicho tiempo es una medida para indicar la capacidad de hemostasia de plaquetas.

En el análisis se registran los componentes plasmáticos y celulares de la hemostasia primaria. Esto se produce mediante la simulación in vitro de las condiciones fisiológicas que conducen a la adhesión, a la activación y a la agregación de trombocitos.

En los dispositivos para el diagnóstico de la función de plaquetas, ante el paso de una muestra de sangre total tamponada con citrato de sodio, se simulan las relaciones que predominan en un vaso sanguíneo mediante una abertura de la membrana cubierta con colágeno (Col) y con otro activador como epinefrina (Epi) o adenosina-5'-difosfato (ADP). Las plaquetas reaccionan ante la presencia de los componentes plasmáticos, por ejemplo, del factor de von Willebrand bajo relaciones de fuerzas cortantes y de presión que corresponden a un vaso sanguíneo pequeño dañado. Mediante la adhesión y agregación de trombocitos, se obtiene el cierre de la abertura de la membrana. El tiempo medido desde el comienzo de la medición hasta el cierre de la abertura de la membrana, es el ya mencionado tiempo de obturación. Los límites de decisión en los estudios clínicos surgen considerando los tiempos de obturación que se superponen de poblaciones normales y anormales, en el sistema PFA- 100® mediante los siguientes márgenes de referencia:

| Célula de medida del dispositivo | 3,8 % de sangre citratada tamponada<br>Margen de referencia (s) | 3,2 % de sangre citratada tamponada<br>Margen de referencia (s) |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Colágeno / epinefrina            | 94 - 193                                                        | 82 - 150                                                        |
| Colágeno / ADP                   | 71 - 118                                                        | 62 - 100                                                        |

Con los dispositivos conocidos para el diagnóstico de la función de plaquetas, se dispone de una posibilidad de detección simple para los pacientes en riesgo con trastorno funcional congénito de los trombocitos. Las células de medida o bien, los cartuchos de prueba de dichos dispositivos permiten la diferenciación entre una función de plaquetas normal o anormal (Col/Epi) y el reconocimiento de un trastorno inducido por ácido acetilsalicílico (Col/ADP). Mediante el diagnóstico de la función de plaquetas se puede diagnosticar una gran cantidad de pacientes con trastornos funcionales congénitos de los trombocitos, sin que resulte necesario otro diagnóstico especial como, por ejemplo, la agregometría. En la toma de ácido acetilsalicílico, se miden en suero concentraciones de medicamentos que ascienden muy rápidamente y que disminuyen nuevamente. La consecuencia es un ascenso de los tiempos de obturación Col/Epi que permanecen prolongados durante días. Se han establecido individualmente en los pacientes prolongaciones de los tiempos de obturación de diferentes intensidades.

En las patentes EP- 0 716 744 B1 y 0 716 745 B1, así como en US-A-5602037 y WO96/00899A, se describen en detalle dispositivos para el diagnóstico de plaquetas sanguíneas en los que se emplean células de medida o bien, cartuchos de prueba, y que efectúan las pruebas para comprobar la función de las plaquetas sanguíneas. Las pruebas descritas en las patentes estadounidenses 4 604 804, 4 780 418 y 5 051 239 para la prueba de la función de las plaquetas comprenden una etapa de incubación en el dispositivo, durante la cual la muestra de sangre a analizar y los componentes de la prueba se calientan a una determinada temperatura, donde durante dicha etapa de incubación la muestra y los componentes de prueba se conservan separados. Después de la etapa de incubación un tubo capilar entra en contacto con la sangre, donde se produce una presión negativa en la cámara de prueba que provoca que se aspire la sangre a través del tubo capilar. La presión negativa provoca que la muestra de sangre circule desde una cámara de retención a través del tubo capilar a una cámara de recepción y a través de una abertura en el elemento de separación. En el caso de cartuchos de prueba para el empleo en la prueba de la función de plaquetas, los reactivos activan en el elemento de separación la formación de un tapón de trombocitos que obstruye la abertura, de manera que la muestra de sangre ya no pueda circular a través del tubo capilar. El tiempo necesario para interrumpir el flujo de sangre se contrasta con el tiempo necesario para interrumpir el flujo de sangre cuando la función de las plaquetas de la sangre es normal. El tiempo de obturación para la sangre normal se determina mediante análisis o bien, pruebas de sangre normal.

Los elementos de separación porosos en los cartuchos de prueba, empleados en los dispositivos conocidos, son aptos para pruebas de coagulación de plasma sanguíneo y de sangre total que son similares a las pruebas de tiempo de protrombina y las pruebas de tiempo de tromboplastina parcial para la evaluación de las funciones de coagulación. La formación de tapón se inicia mediante  
 5 contacto de la sangre con activadores apropiados para la activación exógena o bien, endógena. Los activadores se encuentran incorporados en los elementos de separación porosos. El tiempo necesario para la detención del flujo de sangre se correlaciona, por ejemplo, con el tiempo de protrombina o con el tiempo de tromboplastina parcial de las personas a analizar.

La concentración del o de los medios en los elementos de separación porosos, se selecciona  
 10 de manera tal que resulte un tiempo de obturación que indique una diferencia entre parámetros de coagulación normales y anormales. En la prueba de función de plaquetas, adenosina-5'-difosfato (ADP) es un reactivo preferido para la incorporación en los elementos de separación porosos. En una muestra de sangre normal, el tiempo de obturación depende, en parte, de la concentración de la sustancia biológicamente activa, que se incorpora en la membrana. La concentración de dicha  
 15 sustancia se selecciona de manera tal que se obtenga una diferenciación óptima entre parámetros de coagulación normales y anormales. La concentración de reactivos se puede optimizar considerando la sensibilidad deseada de la prueba. Resulta deseable que la concentración de ADP sea suficiente para poder comprobar una disfunción menor de los trombocitos, pero que no sea tan reducida como para obtener resultados variables.

En el caso de los dispositivos conocidos para el diagnóstico de plaquetas sanguíneas, se  
 20 presenta el problema de comprobar o bien, controlar los desarrollos funcionales técnicos antes de comenzar con una prueba. Dicho control funcional de los dispositivos se diferencia completamente de la autocomprobación de los dispositivos en la que se comprueban, por ejemplo, la tensión de funcionamiento, la captación de corriente, la temperatura de funcionamiento, el tiempo de calentamiento para la muestra y similares.  
 25

Es objeto de la presente invención, comprobar los desarrollos funcionales técnicos de un dispositivo para el diagnóstico de las plaquetas sanguíneas.

Dicho objeto se resuelve mediante los objetos y método descritos en las reivindicaciones, en particular mediante un dispositivo de la clase descrita en la introducción, de manera que un elemento  
 30 de separación cierre herméticamente al aire un volumen del líquido y un cojín de aire que se encuentra sobre dicho líquido en la cámara de retención, y de manera que se pueda introducir una célula de medida en la parte superior de la cámara de retención y que un tubo capilar conecte la célula de medida con el volumen del líquido.

En un acondicionamiento del dispositivo, la cámara de retención se puede cerrar  
 35 herméticamente al aire mediante un cierre superior. Convenientemente, la célula de medida se apoya, herméticamente al aire, sobre una base circunferencial que se encuentra fijada en la pared interior de la cámara de prueba. A la célula de medida se puede conectar herméticamente un dispositivo de aspiración que produce una presión negativa en la célula de medida.

En un acondicionamiento preferido de la presente invención, el líquido de prueba contiene un  
 40 compuesto de glicerina y agua. Aunque también otros líquidos o sus compuestos se emplean, conforme a la presente invención, como líquido de prueba, donde dichos líquidos, de acuerdo con el fin de aplicación especial, en contraste con la viscosidad de la muestra por probar, por ejemplo, sangre total, plasma sanguíneo rico en plaquetas, plasma sanguíneo, presentan una viscosidad comparable idéntica, más reducida o elevada, es decir, en el marco de un margen de fluctuación  
 45 normal. Los líquidos apropiados para líquido de prueba son, por ejemplo, agua, glicerina, aceites, polietilenglicol y sus compuestos. El líquido de prueba puede contener aún más componentes que elevan, por ejemplo, la estabilidad y/o la durabilidad del líquido de prueba o que pueden modificar su viscosidad, por ejemplo, sustancias tampón, sales, sustancias antimicrobianas, cadenas de ácido nucleico, cadenas de hidratos de carbono, proteínas, etc. La viscosidad de la muestra por probar y del  
 50 líquido de prueba se puede determinar, por ejemplo, con viscosímetros usuales en el comercio.

Un método particularmente preferido, conforme a la presente invención, para el control del funcionamiento de un dispositivo para el análisis de la función de las plaquetas sanguíneas, comprende los siguientes pasos:

- a) La preparación de un volumen del líquido de un líquido de prueba en una cámara de retención;
- 55 b) El cierre hermético al aire del volumen del líquido y de un cojín de aire que se encuentra sobre dicho volumen, con un elemento de separación;

- c) El cierre hermético al aire de la cámara de prueba mediante un elemento de hermetización y la introducción de una célula de medida en la cámara de prueba;
- d) Movimiento de un tubo capilar conectado con una célula de medida en el interior de la cámara de prueba en dirección al elemento de separación, y penetración del elemento de separación con el tubo capilar, de manera que éste último entre en contacto con el líquido de prueba o bien, se sumerja en el líquido de prueba;
- e) Producción de una presión negativa suficiente en la célula de medida, de manera que el líquido de prueba circule a través del tubo capilar hacia la célula de medida;
- f) Medición del tiempo que se requiere hasta que concluya el flujo del líquido de prueba hacia la célula de medida; y
- g) Correlacionar el tiempo medido en el paso (f) con un valor de referencia predeterminado.

El valor de referencia predeterminado en el paso g) es, por ejemplo, el tiempo para el flujo de sangre en un margen normal predeterminado del dispositivo para el análisis de la función de las plaquetas sanguíneas.

- Otro acondicionamiento del método, resulta de las medidas del método de las reivindicaciones 17 a 23.

La presente invención permite simular una prueba para la determinación del tiempo de obturación de una muestra normal de sangre total o de plasma, según la especificación de una velocidad de inicial de circulación y de un volumen total aspirado de la muestra de sangre total, con la ayuda de un líquido de prueba. Dado que se conoce el tiempo de obturación esperado, cada diferencia significativa del tiempo de obturación del líquido de prueba indica que la disponibilidad de aplicación del dispositivo para el diagnóstico deseado, por ejemplo, diagnóstico de plaquetas sanguíneas, no está dada. De esta manera, una fuga entre el dispositivo de aspiración y la célula de medida del dispositivo puede conducir a tiempos de obturación demasiado prolongados del líquido residual.

El principio de medición para el tiempo de obturación del líquido de prueba consiste en que el tiempo desde el comienzo de la circulación del líquido de prueba hasta la detención de la circulación, provocada mediante la compensación de presión entre la presión negativa en la cámara de retención y la presión de aspiración en la célula de medida, se mide en unidades de tiempo, por ejemplo, en segundos.

La constancia del tiempo de obturación es muy buena, donde las divergencias en los parámetros del volumen total aspirado del líquido de prueba y la velocidad inicial de circulación resultan muy reducidas con un 1 a un 2 %.

Las formas de ejecución especiales de la presente invención, se explican en detalle a continuación, mediante ejemplos de ejecución representados gráficamente. Muestran:

Figura 1 en una representación de despiece, un cartucho para el control del funcionamiento de un dispositivo para el diagnóstico de las plaquetas sanguíneas, de acuerdo con la presente invención;

Figura 2 una representación en corte de una primera forma de ejecución del cartucho a lo largo de la línea I-I de la figura 1 en contacto con una conexión de aspiración de un dispositivo de aspiración;

Figura 3 una representación en corte de una segunda forma de ejecución del cartucho a lo largo de la línea I-I de la figura 1 en contacto con una conexión de aspiración de un dispositivo de aspiración;

Figuras 4a representaciones en corte de una tercera y una cuarta forma de ejecución del cartucho y 4b a lo largo de la línea I-I de la figura 1.

El cartucho conforme a la presente invención para el control del funcionamiento se explica mediante formas de ejecución que se emplean en dispositivos para el diagnóstico de las plaquetas sanguíneas. La estructura exterior y las dimensiones de la carcasa de un cartucho de esta clase concuerdan con J los cartuchos de prueba, como se muestran y describen en las patentes europeas EP 0 716 744 B1 y 0 716 745 B1.

La figura 1 muestra, en una representación de despiece, una forma de ejecución del cartucho que presenta una carcasa 1, que comprende una cámara de retención 5 y una cámara de prueba 3 fijada lateralmente en la cámara de retención. Sobre la parte superior de la carcasa 1 se encuentra un

reborde circunferencial 20 que sobresale sobre la cámara de retención 5 y la cámara de prueba 3. La geometría de la carcasa 1 se selecciona de manera que se minimice la probabilidad de la inclusión de una burbuja de aire en el cartucho. Para ello, sirve, entre otros, una base inclinada 17 (ver figuras 2 y 3) de la cámara de retención 5 para mantener reducida la inclusión de aire, cuando se carga el líquido de prueba en la cámara de retención 5 a través de la abertura 21. A través de la geometría de la carcasa 1 se alcanza un contacto de las superficies lo mayor posible del líquido de prueba con la pared de la carcasa mencionada, en tanto que al mismo tiempo se minimiza la superficie del líquido de prueba que se expone al aire. En la cámara de prueba 3 se puede introducir una célula de medida 8 a la que se fija un tubo capilar 9. En el interior de la célula de medida 8 se encuentran fijadas nervaduras de bloqueo 18 para el posicionamiento de una conexión de aspiración 13 de un dispositivo de aspiración 12 (ver figuras 2 y 3). En conjunto, se proveen cuatro nervaduras de bloqueo 18 de esta clase, de las cuales se muestran dos en la fig. 1 y tres en la fig. 2. Después de que la célula de medida 8 se introduzca en la cámara de prueba 3 y el líquido de prueba se haya cargado a través de la abertura 21, la carcasa 1 se cierra con un cierre superior 19 removible, que cierra con el reborde 20. El cierre superior 19 se puede retirar de la carcasa 1 y se puede apartar completamente del reborde 20.

La célula de medida 8 presenta un borde superior 16 circunferencial.

Las figuras 2 y 3 muestran representaciones en corte a lo largo de la línea I-I de la fig. 1.

La vista en corte de la figura 2 muestra una primera forma de ejecución del cartucho, en la que el tubo capilar 9 sobresale hacia el interior de la célula de medida 8. El cartucho contiene en la cámara de retención 5 un volumen de líquido 7. El volumen del líquido 7 se conforma mediante el líquido de prueba cargado 4. Así como se efectuó, la cámara de retención 5 se cierra mediante un elemento de separación 2, a saber, a una altura a la que se encuentra un cojín de aire 6, por encima del nivel del líquido de prueba 4.

En la figura 2 se muestra la configuración entre el dispositivo de aspiración 12 y el cartucho, después de que la conexión de aspiración 13 del dispositivo de aspiración 12 haya entrado en contacto con la célula de medida 8, y que la haya presionado hacia abajo en la cámara de prueba todo lo necesario, de manera que la célula de medida 8 se apoye sobre una base circunferencial 11 que se encuentra fijada en la pared interior de la cámara de prueba 3. La célula de medida 8 es cilíndrica y presenta un diámetro menor que el diámetro interior de la cámara de prueba 3. El borde superior 16, levemente arqueado de la célula de medida 8, se encuentra en la pared interior de la cámara de prueba 3. Entre el lado exterior de la célula de medida 8 y la pared interior de la cámara de prueba 3, se encuentra un elemento de hermetización 15 que cierra la cámara de prueba herméticamente al aire de la atmósfera exterior. En el movimiento de la célula de medida 8, el tubo capilar 9 penetra hacia abajo el elemento de separación 2 y entra en contacto con el líquido de prueba 4 en el volumen del líquido 7 o bien, se sumerge en dicho líquido de prueba 4. En dicha posición de la célula de medida 8, se produce una presión negativa en la célula de medida 8, mediante el dispositivo de aspiración 12. La conexión de aspiración 13 se encuentra provista en su lado exterior de una junta tórica 14 que se apoya sobre el borde 16 de la célula de medida 8 y contribuye con el cierre hermético de la célula de medida contra la atmósfera exterior. Mediante la presión negativa ejercida en la célula de medida 8, el líquido de prueba 4 circula desde el volumen del líquido 7 a través del tubo capilar 9 hacia la célula de medida 8, y se forma un volumen del líquido 10 con nivel ascendente. Mediante el ingreso del líquido de prueba 4 en la célula de medida 8, disminuye el volumen del líquido 7 y el cojín de aire 6 se expande, con que surge una presión negativa en la cámara de aire entre el elemento de separación 2 y el volumen del líquido 7. En cuanto dicha presión negativa sea de igual magnitud que la presión negativa provocada por el dispositivo de aspiración 12 en la célula de medida 8, se regula un equilibrio y, desde ese momento, ya no circula ningún líquido de prueba 4 hacia la célula de medida 8. El intervalo temporal desde el comienzo de la circulación del líquido de prueba 4, es decir, desde la producción de una presión negativa de, por ejemplo, -40 mbar en la célula de medida, hasta que concluya la circulación del líquido de prueba 4, se mide en segundos y se indica como tiempo de obturación. El principio de medición basado en el tiempo de obturación, de esta manera, se basa en un equilibrio de la presión negativa en el cojín de aire por encima del volumen del líquido 7, con la presión negativa en la célula de medida 8.

El líquido de prueba 4 contiene, por ejemplo, un compuesto de glicerina y agua, y su viscosidad se regula de manera que corresponda a la viscosidad de sangre normal. Además, la proporción de glicerina y agua asciende de 30:70 a 40:60, con respecto al peso total del compuesto de glicerina y agua. La proporción de glicerina y agua asciende particularmente a 35:65 porcentaje en peso, respectivamente en relación al peso total del compuesto de glicerina y agua.

La velocidad inicial de circulación del líquido de prueba 4 se controla mediante la modificación de la longitud y del diámetro interior del tubo capilar 9. El diámetro interior del tubo capilar 9 se encuentra en el rango de 100 a 220  $\mu\text{m}$ , en particular asciende de 150 a 210  $\mu\text{m}$ . La longitud del tubo

capilar 9 se encuentra en el rango de 15 a 30 mm. En una forma de ejecución preferida, el diámetro interior del tubo capilar asciende a  $200 \pm 10 \mu\text{m}$  y la longitud del tubo capilar 9, a 30 mm. La velocidad inicial de circulación (IF = Initial Flow Speed) asciende de 150 a 200  $\mu\text{l}/\text{min}$  con una tolerancia de alrededor de  $\pm 2,5$  a 3 %. El volumen total en un líquido de prueba 4 asciende a 300 a 400  $\mu\text{l}$ , con una tolerancia de  $\pm 5$  a 7 %. Con la configuración indicada anteriormente del tubo capilar 9 y las condiciones para la velocidad inicial de circulación y el volumen total del líquido de prueba 4, se obtiene un tiempo de obturación de alrededor de 120 a 180 seg. con una tolerancia de  $\pm 5$  seg. La viscosidad, el volumen total y la velocidad inicial de circulación del líquido de prueba 4, así como la presión negativa en la célula de medida 8, determinan el tiempo de obturación del líquido de prueba.

Si para algunas pruebas se requiere prolongar o reducir el tiempo de obturación, de esta manera, se puede elevar o disminuir la viscosidad del líquido de prueba 4 mediante la modificación de la proporción entre glicerina y agua. En el caso que el tubo capilar 9 se reduzca, el diámetro interior del tubo capilar se puede reducir para conservar la velocidad de circulación inicial. En el caso de una reducción del tubo capilar ante un diámetro interior invariable, se debe reducir el volumen total del líquido de prueba, para poder mantener constante la velocidad de circulación. Cuanto mayor sea el volumen de aire, es decir, el cojín de aire inicial 6 por encima del volumen de líquido 7, más largo es el tiempo de obturación del líquido de prueba. La magnitud de la velocidad de circulación inicial, del volumen total en el líquido de prueba, del volumen de aire o bien, del cojín de aire 6, y la viscosidad del líquido de prueba se seleccionan de manera tal que se respete el tiempo de obturación estandarizado de 120 a 180 seg. que coincide con el tiempo de obturación de sangre normal. Si en una medición se manifiesta que el tiempo de obturación del líquido de prueba difiere del tiempo de obturación estandarizado, se puede partir de la base de que el dispositivo comprobado para el diagnóstico de las plaquetas sanguíneas no funcione correctamente. El material para el tubo capilar 9 es preferentemente acero inoxidable, en el que se puede mantener la tolerancia predeterminada reducida para el diámetro interior de una superficie interior relativamente lisa. La célula de medida 8 se conforma, convenientemente, de un material plástico como polipropileno o tereftalato de polietileno.

En la figura 3 se representa otra forma de ejecución del cartucho en corte. Dicha forma de ejecución se diferencia de la forma de ejecución que se muestra en la figura 2, sólo porque el tubo capilar 9 se encuentra integrado con la célula de medida 8, de manera tal que el tubo capilar se conecte integralmente con la parte inferior de la célula de medida 8, sin sobresalir hacia el interior de la célula de medida. El lado superior de la célula de medida 8 se encuentra cerrado excepto en una pequeña abertura 22. Dicha abertura 22, se encuentra conectada con una conexión de aspiración del dispositivo de aspiración 12. En la posición que se muestra en la figura 3, el tubo capilar 9 ha penetrado, asimismo, el elemento de separación 2, y se encuentra en contacto con el líquido de prueba 4 del volumen del líquido 7. El dispositivo de aspiración 12, que se apoya herméticamente sobre la célula de medida 8 por encima de la junta tórica 14, ha desplazado la célula de medida 8 en la cámara de prueba 3 hacia abajo, de manera que la célula de medida se apoye sobre la base 11. En dicha forma de ejecución de la célula de medida 8, se pueden suprimir las nervaduras de bloqueo, puesto que la célula de medida se encuentra cerrada toda a su alrededor excepto en la pequeña abertura 22. En cuanto el dispositivo de aspiración 12 produzca una presión negativa en el interior de la célula de medida 8, el líquido de prueba 4 asciende a través del tubo capilar 9 hacia la célula de medida y forma allí un volumen del líquido 10 creciente hasta que la presión negativa en el cojín de aire 6, por encima del volumen del líquido 7, sea igual a la presión negativa ejercida en la célula de medida 8. El cartucho provisto para un uso único se elimina conjuntamente con el líquido de prueba 4 en el interior de la célula de medida 8 al finalizar la prueba. El cartucho que se muestra en las figuras 2 y 3, para un uso único, se prepara para la prueba mediante los siguientes pasos. En primer lugar, el líquido de prueba 4 se carga en la cámara de retención 5 y, a continuación, la cámara de retención 5 se cierra herméticamente con el elemento de separación 2. Entre el elemento de separación 2 y el volumen de líquido 7, se encuentra un cojín de aire 6. A continuación, se introduce una célula de medida 8 en la cámara de prueba 3, y la cámara de prueba se cierra herméticamente mediante un elemento de hermetización 15, que se encuentra en la pared interior de la carcasa 1 del cartucho y mediante una pared divisoria entre la cámara de prueba 3 y la cámara de retención 5. Después, el lado superior de la carcasa 1 se cierra herméticamente al aire con un cierre 19. La célula de medida 8 se encuentra en una posición más cercana al cierre 19, donde el tubo capilar 9 conectado con la célula de medida 8 se encuentra dispuesto con su extremo inferior por encima del elemento de separación 2, es decir, el elemento de separación 2 no es penetrado por el tubo capilar 9. A continuación, antes de la introducción del cartucho en el dispositivo para el diagnóstico de las plaquetas sanguíneas, se retira el cierre 19 mediante la cámara de prueba 3. En cuanto el cierre 19 cubra la cámara de retención 5, dicho cierre se mantiene. En el siguiente paso, el tubo capilar 9 conectado con la célula de medida 8 se desplaza en el interior de la cámara de prueba 3 en dirección al elemento de separación 2, provocado mediante la presión mecánica ejercida por el dispositivo de aspiración 12 sobre la célula de medida 8, por lo que dicha célula se desplaza hacia abajo hasta posarse sobre la base 11. En dicho movimiento, el tubo capilar 9 penetra el elemento de separación y entra en contacto con el líquido de prueba 4 del volumen del líquido 7 o bien, se sumerge en el líquido

de prueba. Mediante el dispositivo de aspiración 12 se produce una presión negativa suficiente en la célula de medida, de manera que el líquido de prueba circule a través del tubo capilar 9 hacia la célula de medida, y allí se conforma un volumen del líquido 10. Se mide el tiempo que se requiere hasta que concluya el flujo del líquido de prueba hacia la célula de medida. El comienzo de la medición de tiempo marca la aplicación de la presión negativa en la célula de medida. El tiempo de obturación, conservado de esta manera, se correlaciona con el tiempo para el flujo de sangre en un rango normal predeterminado del dispositivo para el diagnóstico de las plaquetas de sangre.

La figura 4a muestra una tercera forma de ejecución del cartucho que está diseñada de manera similar a la primera forma de ejecución, de acuerdo con la figura 2.

El elemento de hermetización 15, en dicha forma de ejecución, se conforma como junta tórica. El tubo capilar se encuentra rodeado por una envoltura 23, en el interior de la cámara de retención 5, y en cuanto el tubo capilar 9 sobresale hacia el interior de la célula de medida 8, se envuelve con otra envoltura 26. Si bien esto no se muestra en las formas de ejecución de acuerdo con las figuras 2 y 3, resulta evidente que también en la primera y en la segunda forma de ejecución, el tubo capilar 9 está o puede estar rodeado respectivamente por una envoltura 23, y que la primera forma de ejecución presenta o puede presentar adicionalmente una envoltura 26. El tubo capilar 9 atraviesa un elemento de separación 25.

Una pared 27 entre la cámara de retención 5 y la cámara de prueba 3 se extiende hacia abajo hasta cerca de la base inclinada 17, y pasa en el sector inferior doblado o curvado. El elemento de separación 25 se encuentra entre la pared y una pared de la carcasa 1 y cierra la cámara de retención 5 frente a la cámara de prueba 3. El líquido de prueba toma un volumen del líquido 7 en el interior de la cámara de retención 5, donde el volumen del líquido llena aproximadamente el volumen medio de la cámara de retención 5. En la parte superior de la cámara de retención 5 se encuentra otro elemento de separación 24 que se incorpora, después del llenado del líquido de prueba 4 en la cámara de retención 5, con una distancia con el reborde 20. Entre dichos elementos de separación 24 y el nivel del líquido de prueba 4, se encuentra incluido el cojín de aire 6. Las piezas restantes del cartucho corresponden en gran parte a la primera forma de ejecución, conforme a la figura 2, y se indican con los mismos símbolos de referencia que en la figura 2, de manera tal que dichas piezas no deban ser descritas nuevamente.

La cuarta forma de ejecución, de acuerdo con la figura 4b, se conforma de manera similar a la tercera forma de ejecución de acuerdo con la figura 4a, de manera que, a continuación, sólo se explican las características diferentes a la tercera forma de ejecución. En la cuarta forma de ejecución representada, la abertura 21 de la cámara de retención 5 se cierra con el elemento de separación 24, que se apoya sobre el reborde 20, después del llenado del líquido de prueba. El cierre superior 19 del cartucho aboveda el elemento de separación 24 y cierra con el reborde 20. Después de retirar el cierre 19 del reborde 20, la cámara de retención 5 permanece cerrada herméticamente al aire, además, mediante el elemento de separación 24. El cierre 19 consiste, por ejemplo, en una lámina autoadhesiva. El cojín de aire 6 en la cuarta forma de ejecución es más grande que en la tercera forma de ejecución, puesto que el elemento de separación 24 cierra a ras la abertura 21 de la cámara de retención, y no está fijado en el interior de la cámara de retención, como en la tercera forma de ejecución.

El tubo capilar 9 penetra el elemento de separación 25.

La configuración entre el dispositivo de aspiración y el cartucho es la misma para la tercera y la cuarta forma de ejecución, como se ha descrito de acuerdo con la primera forma de ejecución. Para una mejor vista general, en las figuras 4a y 4b no se representa el dispositivo de aspiración, sin embargo, continúa teniendo validez el hecho de que la presión negativa ejercida por el dispositivo de aspiración permita la circulación del líquido de prueba a través del tubo capilar 9 hacia la célula de medida 8, y que allí se conforme el volumen del líquido 10 hasta que la presión negativa en el cojín de aire 6, por encima del volumen del líquido 7, sea igual que la presión negativa en la célula de medida 8.

Mediante tiempos de obturación prolongados o reducidos, en contraste con el tiempo de obturación estandarizado para sangre normal u otras muestras a probar, y velocidades de circulación iniciales elevadas o reducidas del líquido de prueba, además se pueden simular estados de la sangre normales y anormales y, de esta manera, se efectúa el control del funcionamiento de dispositivos para el diagnóstico de plaquetas sanguíneas en relación con composiciones sanguíneas anormales. Esto se puede lograr mediante la selección del líquido de prueba correspondiente apropiado, en particular mediante su viscosidad en contraste con la viscosidad de la muestra por probar, en los cartuchos, conforme a la presente invención, así como otras formas de acondicionamiento conformes a la presente invención.

## REIVINDICACIONES

- 5        1. Cartucho para el control del funcionamiento de un dispositivo para el análisis de la función de plaquetas sanguíneas, con una carcasa (1) que comprende una cámara de prueba (3) y una cámara de retención (5), **caracterizado porque** un elemento de separación (2; 25) cierra herméticamente al aire el volumen del líquido (7) de un líquido de prueba (4) y un cojín de aire (6) que se encuentra sobre dicho líquido en la cámara de retención (5), que se puede introducir una célula de medida (8) en la parte superior de la cámara de retención (3) y que un tubo capilar (9) conecta la célula de medida con el volumen del líquido (7).
- 10       2. Cartucho de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** la cámara de retención (5) se puede cerrar herméticamente al aire mediante un cierre superior (19).
- 15       3. Cartucho de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado porque** la célula de medida (8) se apoya sobre una base circunferencial (11) que se encuentra fijada en la pared interior de la cámara de prueba (3).
- 15       4. Cartucho de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** la célula de medida (8) es cilíndrica y presenta un diámetro menor que el diámetro interior de la cámara de prueba (3).
- 20       5. Cartucho de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** un elemento de hermetización (15) entre la parte exterior de la célula de medida (8) y la pared interior de la cámara de prueba (3), cierra la cámara de prueba herméticamente al aire de la atmósfera exterior.
- 20       6. Cartucho de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** a la célula de medida (8) se puede conectar herméticamente un dispositivo de aspiración (12) que produce una presión negativa en la célula de medida (8).
- 25       7. Cartucho de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado porque** el dispositivo de aspiración (12) presenta una conexión de aspiración (13) que se encuentra provista de una junta tórica (14).
- 30       8. Cartucho de acuerdo con la reivindicación 7, **caracterizado porque** la junta tórica (14) se apoya herméticamente sobre un borde (16) de la célula de medida (8).
- 30       9. Cartucho de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado porque** el tubo capilar (9) sobresale hacia el interior con su extremo superior en la célula de medida (8) que atraviesa el elemento de separación (2) y que se sumerge con su extremo inferior en el líquido de prueba (4) del volumen del líquido (7).
- 35       10. Cartucho de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** la célula de medida (8) se encuentra cerrada toda a su alrededor excepto en una pequeña abertura (22) en su parte superior y el tubo capilar (9) conectado con la célula de medida (8).
- 40       11. Cartucho de acuerdo con la reivindicación 10, **caracterizado porque** el tubo capilar (9) se encuentra conectado integralmente con la parte inferior de la célula de medida (8), sin sobresalir hacia el interior de la célula de medida (8).
- 40       12. Cartucho de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 11, **caracterizado porque** el líquido de prueba (4) contiene un compuesto de glicerina y agua.
- 40       13. Cartucho de acuerdo con la reivindicación 12, **caracterizado porque** la proporción de glicerina y agua asciende a 30:70 a 40:60, preferentemente 35:65 porcentaje en peso, con respecto al peso total del compuesto de glicerina y agua.
- 45       14. Cartucho de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 11, **caracterizado porque** el líquido de prueba contiene agua, aceites, polietilenglicol o compuestos de estos.
- 50       15. Cartucho de acuerdo con la reivindicación 12 ó 14, **caracterizado porque** el líquido de prueba (4) contiene sustancias tampón, sales, sustancias antimicrobianas, cadenas de ácido nucleico, cadenas de hidratos de carbono, proteínas.
- 50       16. Método para el control del funcionamiento de un dispositivo para el análisis de la función de plaquetas sanguíneas, que comprende los siguientes pasos:

- a) Preparación de un volumen del líquido (7) de un líquido de prueba (4) en una cámara de retención (5);
- b) Cierre hermético al aire del volumen del líquido (7) y de un cojín de aire (6) que se encuentra sobre dicho volumen, con un elemento de separación (2; 25);
- 5 c) Cierre hermético al aire de la cámara de prueba (3) mediante un elemento de hermetización (15) y la introducción de una célula de medida (8) en la cámara de prueba;
- d) Movimiento de un tubo capilar (9) conectado con una célula de medida (8) en el interior de la cámara de prueba (3) en dirección al elemento de separación (2; 25), y penetración del elemento de separación con el tubo capilar, de manera que éste último entre en contacto con el líquido de prueba o bien, se sumerja en el líquido de prueba;
- 10 e) Producción de una presión negativa suficiente en la célula de medida, de manera que el líquido de prueba circule a través del tubo capilar hacia la célula de medida;
- f) Medición del tiempo que se requiere hasta que concluya el flujo del líquido de prueba hacia la célula de medida; y
- 15 g) Correlacionar el tiempo medido en el paso (f) con un valor de referencia predeterminado.
- 17. Método de acuerdo con la reivindicación 16, caracterizado porque** la viscosidad del líquido de prueba se selecciona igual a la viscosidad de la sangre o del plasma sanguíneo en estado normal.
- 18. Método de acuerdo con la reivindicación 16, caracterizado porque** la viscosidad del líquido de prueba se selecciona más elevada que la viscosidad de la sangre o del plasma sanguíneo en estado normal, de manera que se prolongue el tiempo conforme al paso (f).
- 19. Método de acuerdo con la reivindicación 16, caracterizado porque** la viscosidad del líquido de prueba se selecciona más reducida que la viscosidad de la sangre o del plasma sanguíneo en estado normal, de manera que se reduzca el tiempo conforme al paso (f).
- 20. Método de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 16 a 19, caracterizado porque** el volumen del líquido de prueba se reduce en contraste con el estado inicial, para prolongar el tiempo de acuerdo con el paso (f).
- 21. Método de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 16 a 20, caracterizado porque** el tubo capilar se prolonga, para prolongar el tiempo de acuerdo con el paso (f).
- 22. Método de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 16 a 21, caracterizado porque** el diámetro interior del tubo capilar se reduce, para prolongar el tiempo de acuerdo con el paso (f).
- 23. Método de acuerdo con la reivindicación 16, caracterizado porque** la viscosidad del líquido de prueba es comparable, más reducida o elevada que la viscosidad de la muestra por probar.
- 24. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 16 y 23, caracterizado porque** en el caso del líquido de prueba se trata de agua, glicerina, aceites, polietilenglicol o de un compuesto de estos que, además, contiene preferentemente sustancias tampón, sales, sustancias antimicrobianas, cadenas de ácido nucleico, cadenas de hidratos de carbono, proteínas o compuestos de estos.

**“Siguen 5 páginas de dibujos”**

**Fig. 1**

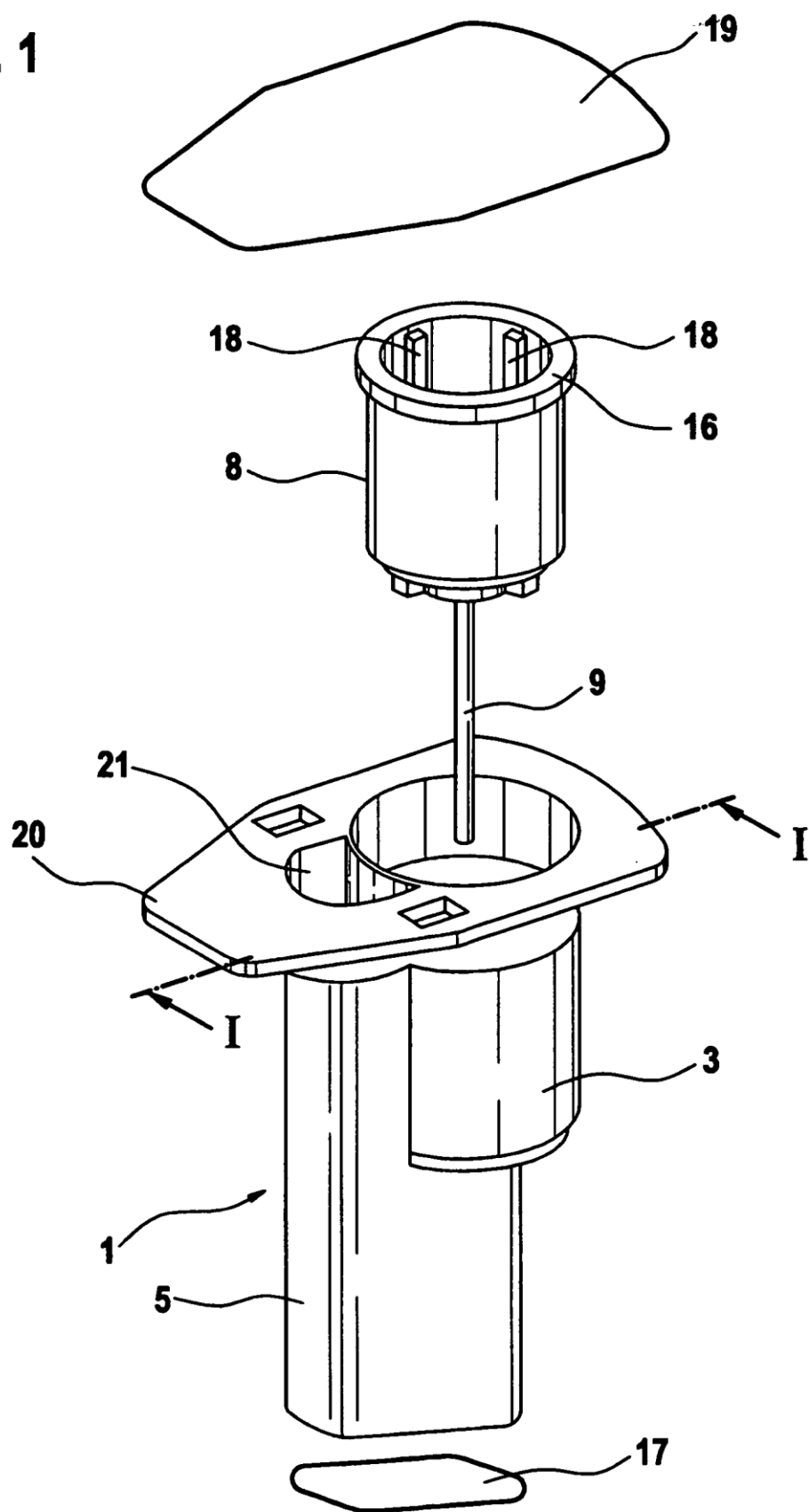


**Fig. 2**

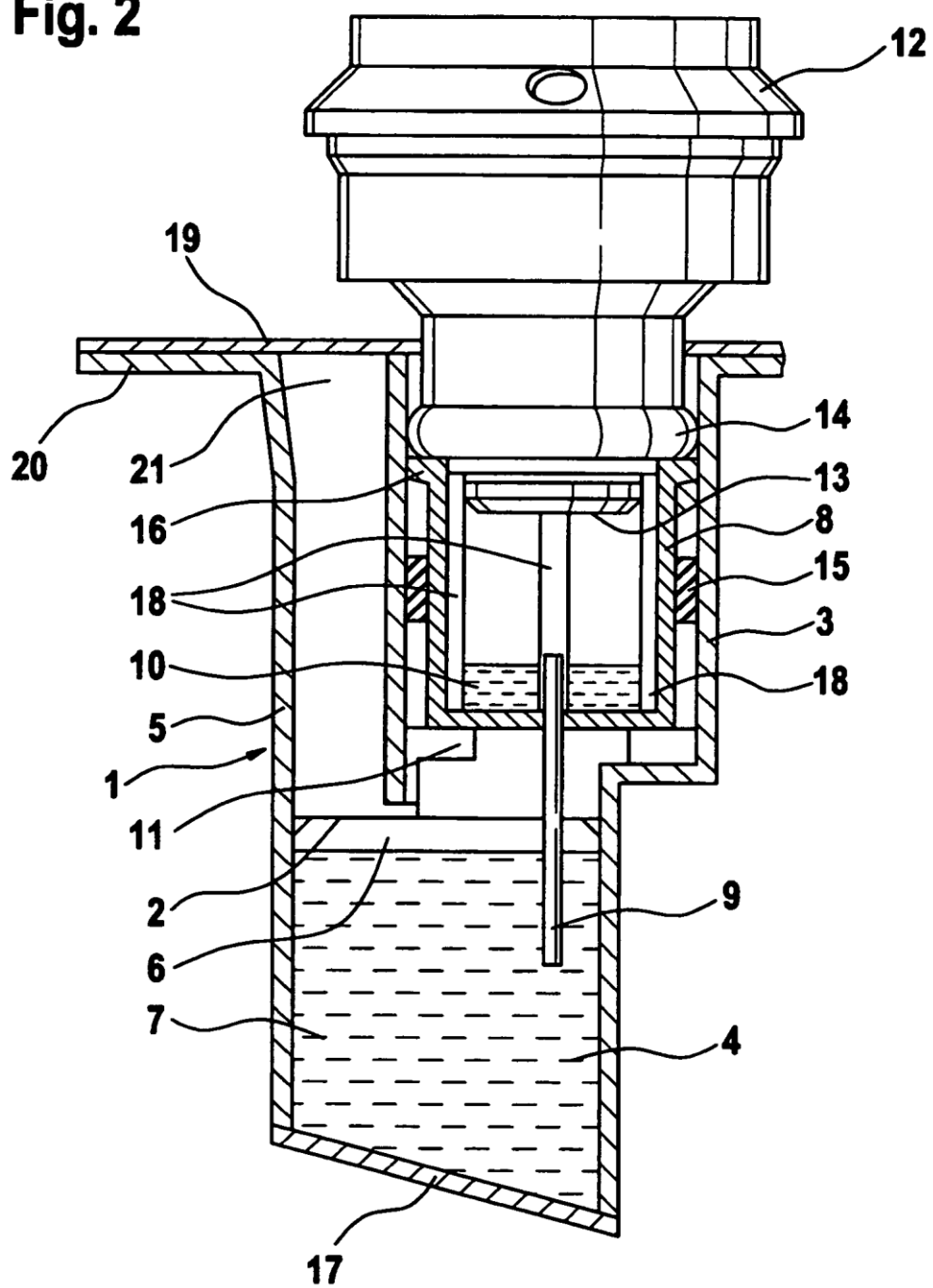


**Fig. 4a**

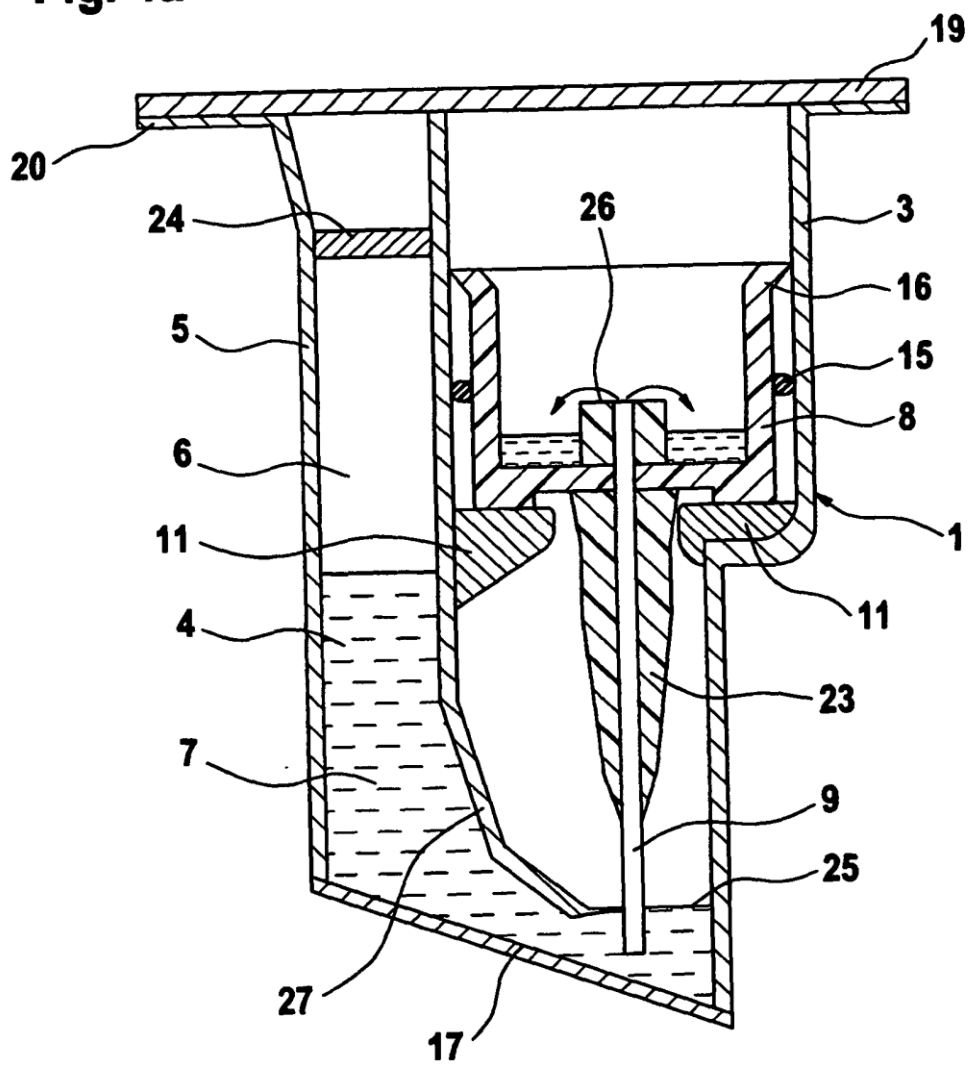


**Fig. 4b**

