

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 965 719**

51 Int. Cl.:

G01N 15/14 (2006.01)

G01N 21/17 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

G01N 15/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.06.2016 PCT/US2016/036232**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.12.2016 WO16205019**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2016 E 16812155 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2023 EP 3311135**

54 Título: **Unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de dispersión desmontable y métodos para usar la misma**

30 Prioridad:

17.06.2015 US 201562181092 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.04.2024

73 Titular/es:

**BECTON, DICKINSON AND COMPANY (100.0%)
1 Becton Drive, Mail Code 110
Franklin Lakes, NJ 07417-1880, US**

72 Inventor/es:

**PETERSEN, TIMOTHY WAYNE y
KERSTEN, VERONICA LAUREN**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 965 719 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

Unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de dispersión desmontable y métodos para usar la misma

5

Introducción

La citometría de flujo es una técnica utilizada para **caracterizar** y clasificar material biológico, tal como células de una muestra de sangre o partículas de interés en cualquier otro tipo de muestra biológica o química. La técnica puede usarse para registrar distribuciones o clasificar físicamente el material biológico.

10

Un citómetro de flujo incluye típicamente un receptáculo de muestra para recibir una muestra de fluido, tal como una muestra de sangre, y un receptáculo de arrastre que contiene un fluido de arrastre. El citómetro de flujo transporta las partículas (incluidas las células) de la muestra de fluido como una corriente de células a una celda de flujo, al mismo tiempo que dirige el fluido de arrastre a la celda de flujo. Dentro de la celda de flujo, se forma una funda de líquido alrededor de la corriente de células para impartir una velocidad sustancialmente uniforme a la corriente de células. La celda de flujo enfoca hidrodinámicamente las células dentro de la corriente para pasar a través de un láser en un punto de interrogación. A medida que los componentes de la corriente de flujo se mueven a través del láser, la luz de los compuestos en la corriente de flujo se emite (p. ej., en forma de fluorescencia) y se dispersa. Las variaciones en los materiales, tal como morfologías o etiquetas fluorescentes, provocan variaciones en la luz observada que permiten **caracterización por** recolección de la luz en un detector óptico.

15

20

La fluorescencia de una muestra en una corriente de flujo es mucho más tenue que el haz láser irradiado que generó la luz dispersa y las señales de fluorescencia. Para minimizar la contribución del láser de excitación en los detectores, se emplean varios medios para eliminar esta luz antes del análisis. Para un clasificador de células de chorro en el aire, la interacción del láser con la corriente produce un disco de luz que debe bloquearse. Como resultado, las barras de dispersión u oscurecimiento en un clasificador de células de chorro en el aire son barras delgadas que bloquean el disco de luz dispersado por la corriente y al mismo tiempo permiten recolectar la mayor cantidad de señal fluorescente valiosa de la muestra.

25

30

La técnica anterior para un clasificador de células de chorro en el aire ha sido un tapón de dispersión, que es un cilindro ahuecado que se desliza sobre la parte superior de un dispositivo de recolección de luz, p. ej., como se ilustra en la Figura 1. El extremo del cilindro tiene un reborde para evitar que se deslice más allá de la parte superior del dispositivo de recolección de luz y a través de este reborde hay una barra, usualmente de 2 mm de ancho. Para que este tapón funcione bien, el láser de excitación debe estar perfectamente alineado para intersectar el centro de la corriente en el punto apropiado, así como el centro de la barra de oscurecimiento. Las soluciones de la técnica anterior requieren que un experto alinee el láser lo suficientemente bien como para utilizar la barra de dispersión para detectar células o partículas muy pequeñas.

35

Resumen

Los aspectos de la presente descripción incluyen una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. Las unidades de tapón de dispersión de detector óptico según ciertas realizaciones incluyen un alojamiento que tiene un extremo proximal y un extremo distal, un orificio en el extremo distal del alojamiento, una barra de dispersión fijada al alojamiento y que se extiende a través del orificio y una barra de cubierta que se acopla reversiblemente con la barra de dispersión. Las realizaciones de la presente descripción incluyen una o más barras de cubierta configuradas para fijarse reversiblemente a la barra de dispersión en el alojamiento de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico, lo que permite al usuario hacer coincidir el estilo de la barra de dispersión con la aplicación en cuestión. Como se describe con mayor detalle a continuación, las barras de cubierta pueden, en ciertas realizaciones, ser un material magnético tal como un acero de óxido magnético. En un ejemplo, el alojamiento de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico incluye uno o más imanes y componentes de alineación para permitir al usuario reemplazar de manera confiable y repetida las barras de cubierta de diferentes formas y tamaños en el alojamiento de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

45

50

También se proporcionan sistemas (p. ej., un citómetro de flujo) que tienen una unidad de tapón de dispersión de detector óptico acoplada a un detector para detectar una o más longitudes de onda de luz, así como métodos para ensayar una muestra donde una muestra (p. ej., en una corriente de flujo) está irradiada con una fuente de luz y una o más de fluorescencia y luz dispersa de la muestra se detecta y mide mediante un detector acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. También se describen kits que tienen un tapón de dispersión de detector óptico y dos o más barras de cubierta configuradas para acoplarse reversiblemente con el tapón de dispersión de detector óptico.

55

60

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra una vista de un tapón de dispersión según la técnica anterior.

65

La Figura 2 proporciona una vista de dos unidades de tapón de dispersión de detector óptico acopladas a detectores según ciertas realizaciones.

5 La Figura 3 proporciona una vista de dos unidades de tapón de dispersión de detector óptico acopladas a detectores según ciertas realizaciones.

La Figura 4A proporciona una vista de un tapón de dispersión de detector óptico sin una barra de cubierta según ciertas realizaciones. La Figura 4B proporciona una vista del tapón de dispersión de detector óptico de la Figura 4A con una barra de cubierta acoplada reversiblemente con el mismo.

10 La Figura 5 representa una ilustración de una vista superior y una vista lateral de un tapón de dispersión de detector óptico según ciertas realizaciones.

15 La Figura 6 representa una ilustración de una vista superior y una vista lateral de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico según ciertas realizaciones.

Descripción detallada

20 Los aspectos de la presente descripción incluyen una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. Las unidades de tapón de dispersión de detector óptico según ciertas realizaciones incluyen un alojamiento que tiene un extremo proximal y un extremo distal, un orificio en el extremo distal del alojamiento, una barra de dispersión fijada al alojamiento y que se extiende a través del orificio y una barra de cubierta que se acopla reversiblemente con la barra de dispersión. También se proporcionan sistemas (p. ej., un citómetro de flujo) que tienen una unidad de tapón de dispersión de detector óptico acoplada a un detector para detectar una o más longitudes de onda de luz, así como métodos para ensayar una muestra donde una muestra en una corriente de flujo está irradiada con una fuente de luz y una o más de fluorescencia y luz dispersa de la muestra se detecta y mide mediante un detector acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. También se describen kits que tienen un tapón de dispersión de detector óptico y dos o más barras de cubierta configuradas para acoplarse reversiblemente con el tapón de dispersión de detector óptico.

30 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo indicado, está abarcado dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños, y también están abarcados dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluya uno o ambos límites, los intervalos que excluyen cualquiera o ambos de esos límites incluidos también se incluyen en la invención.

40 A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente memoria también se puede usar en la práctica o prueba de la presente invención, ahora se describen métodos y materiales ilustrativos representativos.

45 Cabe señalar que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se observa además que las reivindicaciones se pueden redactar para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración pretende servir como base antecedente para el uso de terminología exclusiva como “únicamente”, “solamente” y similares en relación con la recitación de los elementos de las reivindicaciones, o el uso de una limitación “negativa”.

50 Como resultará evidente para los expertos en la técnica al leer esta descripción, cada una de las realizaciones individuales descritas e ilustradas en el presente documento tiene componentes y características discretos que pueden separarse fácilmente o combinarse con las características de cualquiera de las otras diversas realizaciones sin abandonar el ámbito o espíritu de la presente invención. Cualquier método recitado puede llevarse a cabo en el orden de los eventos recitados o en cualquier otro orden que sea lógicamente posible.

60 Como se resumió anteriormente, la presente descripción proporciona una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. En la descripción adicional de realizaciones de la descripción, los componentes de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión se describen primero con mayor detalle. A continuación, se describen sistemas y métodos para medir la luz de una muestra (p. ej., luz fluorescente y dispersa de una corriente de flujo) con un detector acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. También se proporcionan kits que tienen una unidad de tapón de dispersión de detector óptico y dos o más barras de cubierta.

65

Unidad de tapón de dispersión de detector óptico

Como se resumió anteriormente, los aspectos de la presente descripción incluyen una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. En realizaciones de la presente divulgación, la unidad de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión facilita la recolección de luz de una muestra irradiada (p. ej., en una corriente de flujo) por un detector y reduce la cantidad de luz incidente que llega a la superficie del detector. Por luz "incidente" se entiende la luz que incide sobre la muestra mediante la fuente de luz irradiante (p. ej., un láser, LED o lámpara de destello). En algunos casos, las unidades de tapón de dispersión de detector óptico reducen la cantidad de luz incidente de la fuente de luz irradiante que alcanza la superficie del detector en un 50 % o más, tal como en un 60 % o más, tal como en un 75 % o más, tal como en un 80 % o más, tal como en un 85 % o más, tal como en un 90 % o más, tal como en un 95 % o más, tal como en un 97 % o más, tal como en un 99 % o más e incluyendo la reducción de la cantidad de luz incidente de la fuente de luz irradiante en un 99,9 % o más. Al reducir la cantidad de luz incidente de la fuente de luz irradiante que llega a la superficie del detector, la intensidad de la señal del detector procedente de la fluorescencia y la luz dispersa de la muestra aumentan en comparación con las señales del detector procedentes de la fluorescencia y la luz dispersa recolectada por un detector no acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. En algunas realizaciones, la intensidad de la señal del detector de fluorescencia y luz dispersa medida por un detector acoplado a la unidad de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión se incrementa en un 10 % o más en comparación con las señales del detector de fluorescencia y luz dispersa recolectada por un detector no acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico, tal como en un 25 % o más, tal como en un 50 % o más, tal como en un 75 % o más, tal como en un 90 % o más e incluyendo un 95 % o más. En ciertas realizaciones, la intensidad de la señal del detector de fluorescencia y luz dispersa medida por un detector acoplado a la unidad de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión aumenta 1,5 veces o más en comparación con las señales del detector de fluorescencia y luz dispersa medidas por un detector no acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico, tal como 2 veces o más, tal como 3 veces o más, tal como 5 veces o más e incluyendo 10 veces o más.

La unidad de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión incluye un alojamiento que tiene un extremo proximal y un extremo distal que tiene un orificio y una barra de dispersión fijada al alojamiento y que se extiende a través del orificio. Dependiendo del tipo y tamaño del detector (como se describe con mayor detalle a continuación), la longitud del alojamiento puede variar desde 15 mm hasta 50 mm, tal como desde 20 mm hasta 45 mm, tal como desde 25 mm hasta 40 mm e incluyendo desde 30 mm hasta 35 mm. El ancho del alojamiento también puede variar, oscilando de 5 mm a 50 mm, tal como de 10 mm a 45 mm, tal como de 15 mm a 40 mm, tal como de 20 mm a 35 mm e incluyendo de 25 mm a 30 mm. La forma de la sección transversal del alojamiento puede ser cualquier forma conveniente dependiendo del tipo de detector (p. ej., fotodiodo de cuadrante) y puede ser una forma rectilínea, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapezoides, triángulos, hexágonos, etc., formas curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, así como formas irregulares, p. ej., una porción inferior parabólica acoplada a una porción superior plana. En ciertas realizaciones, el alojamiento tiene una forma de sección transversal circular y tiene un diámetro que varía de 5 mm a 50 mm, tal como de 10 mm a 45 mm, tal como de 15 mm a 40 mm, tal como de 20 mm a 35 mm e incluyendo de 25 mm a 30 mm.

El extremo distal del alojamiento incluye un orificio para que la luz llegue al detector. El tamaño del orificio puede variar, teniendo un ancho que oscila de 5 mm a 50 mm, tal como de 10 mm a 45 mm, tal como de 15 mm a 40 mm, tal como de 20 mm a 35 mm e incluyendo 25 mm a 30 mm. El orificio puede tener cualquier forma conveniente dependiendo del tipo de detector (p. ej., fotodiodo de cuadrante) y puede tener una forma rectilínea, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapezoides, triángulos, hexágonos, etc., formas curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, así como formas irregulares, p. ej., una porción inferior parabólica acoplada a una porción superior plana. En ciertas realizaciones, el orificio es circular y tiene un diámetro que varía de 5 mm a 50 mm, tal como de 10 mm a 45 mm, tal como de 15 mm a 40 mm, tal como de 20 mm a 35 mm e incluyendo 25 mm a 30 mm. El área total del orificio puede oscilar entre 1 y 500 mm², tal como de 2 a 400 mm², tal como de 3 a 250 mm², tal como de 5 a 150 mm² e incluyendo de 10 a 100 mm².

El alojamiento de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico está configurado para ser inmovilizado sobre un detector. En realizaciones, el alojamiento puede incluir un sujetador para inmovilizar el alojamiento al detector. Se puede emplear cualquier protocolo de sujeción conveniente, donde los sujetadores de interés pueden incluir, aunque no de forma limitativa, protuberancias, ranuras, pestillos, agujeros o una rosca de tornillo. En algunas realizaciones, el alojamiento incluye una o más protuberancias. En otras realizaciones, el alojamiento incluye una o más ranuras. En otras realizaciones más, el alojamiento incluye una rosca de tornillo y la unidad de tapón de dispersión de detector óptico está roscada con el detector.

El alojamiento de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico puede formarse a partir de cualquier material adecuado, incluidos, aunque no de forma limitativa, metal, vidrio, cerámica o plástico. En ciertas realizaciones, el alojamiento está formada de un plástico, tal como un material plástico rígido, polimérico o termoplástico. Por ejemplo, los plásticos adecuados pueden incluir policarbonatos, cloruro de polivinilo (PVC), poliuretanos, poliéteres, poliamidas, poliimidadas o copolímeros de estos termoplásticos, tales como PETG (tereftalato de polietileno modificado con glicol), entre otros materiales plásticos poliméricos. En ciertas realizaciones, el alojamiento está formado a partir de un poliéster, donde los poliésteres de interés pueden incluir, aunque no de forma limitativa, poli(tereftalatos de alquileno) tales como poli(tereftalato de etileno) (PET), PET grado botella (un copolímero elaborado a base de monoetilenglicol, ácido tereftálico y otros comonomeros tales como ácido isoftálico, ciclohexeno dimetanol, etc.), poli(tereftalato de butileno) (PBT) y poli(tereftalato de hexametileno); poli(adipatos de alquileno) tales como poli(adipato de etileno), poli(adipato de 1,4-butileno) y poli(adipato de hexametileno); poli(suberatos de alquileno) tales como poli(suberato de etileno); poli(sebacatos de alquileno) tales como poli(sebacato de etileno); poli(ϵ -caprolactona) y poli(β -propiolactona); poli(isoftalatos de alquileno) tales como poli(isoftalato de etileno); poli(2,6-

naftalendicarboxilatos de alquileo) tales como poli(2,6-naftalendicarboxilato de etileno); poli(alquilensulfonil-4,4'-dibenzoatos) tales como poli(etilensulfonil-4,4'-dibenzoato); poli(p-fenilendicarboxilatos de alquileo) tales como poli(p-fenilendicarboxilatos de etileno); poli(trans-1,4-ciclohexanodilalquilendicarboxilatos) tales como poli(trans-1,4-ciclohexanodiltilenodicarboxilato); poli(dicarboxilatos de 1,4-ciclohexano-dimetileno-alquileo) tales como poli(dicarboxilato de 1,4-ciclohexano-dimetileno-etileno); poli([2.2.2]-bicyclooctano-1,4-dimetileno alquilendicarboxilatos) tales como poli([2.2.2]-bicyclooctano-1,4-dimetileno etilendicarboxilato); polímeros y copolímeros de ácido láctico tales como (S)-polilactida, (R,S)-polilactida, poli(tetrametilglicolida) y poli(lactida-co-glicolida); y policarbonatos de bisfenol A, 3,3'-dimetilbisfenol A, 3,3',5,5'-tetraclorobisfenol A, 3,3',5,5'-tetrametilbisfenol A; poliamidas tales como poli(p-fenil tereftalamida); Mylar™.

En determinadas realizaciones, el alojamiento de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico está formado a partir de un metal, tal como aluminio, cromo, cobalto, cobre, oro, indio, hierro, plomo, níquel, estaño, acero (p. ej., acero inoxidable), plata, zinc y combinaciones y aleaciones de los mismos. En otras realizaciones, el vástago está formado a partir de una aleación de metal, tal como una aleación de aluminio, una aleación de aluminio-litio, una aleación de aluminio-níquel-cobre, una aleación de aluminio-cobre, una aleación de aluminio-magnesio, una aleación de óxido de aluminio-magnesio, una aleación de aluminio-silicio, una aleación de aluminio-magnesio-manganeso-platino, una aleación de cobalto, una aleación de cobalto-cromo, una aleación de cobalto-wolframio, una aleación de cobalto-molibdeno-carbono, una aleación de cobalto-cromo-níquel-molibdeno-hierro y wolframio, una aleación de cobre, una aleación de cobre y arsénico, una aleación de cobre y berilio, una aleación de cobre y plata, una aleación de cobre y zinc (p. ej., latón), una aleación de cobre y estaño (p. ej., bronce), una aleación de cobre-níquel, una aleación de cobre-wolframio, una aleación de cobre-oro-plata, una aleación de cobre-níquel-hierro, una aleación de cobre-manganeso-estaño, una aleación de cobre-aluminio-zinc-estaño, una aleación de cobre-oro, una aleación de oro, una aleación de oro y plata, una aleación de indio, una aleación de indio y estaño, una aleación de óxido de indio y estaño, una aleación de hierro, una aleación de hierro y cromo (p. ej., acero), una aleación de hierro, cromo y níquel (p. ej., acero inoxidable), una aleación de hierro-silicio, una aleación de hierro-cromo-molibdeno, una aleación de hierro-carbono, una aleación de hierro-boro, una aleación de hierro-magnesio, una aleación de hierro-manganeso, una aleación de hierro-molibdeno, una aleación de hierro-níquel, una aleación de hierro-fósforo, una aleación de hierro-titanio, una aleación de hierro-vanadio, una aleación de plomo, una aleación de plomo-antimonio, una aleación de plomo-cobre, una aleación de plomo-estaño, una aleación de plomo-estaño-antimonio, una aleación de níquel, una aleación de níquel-manganeso-aluminio-silicio, una aleación de níquel-cromo, una aleación de níquel-cobre, una aleación de níquel, molibdeno-cromo-wolframio, una aleación de níquel-cobre-hierro-manganeso, una aleación de níquel-carbono, una aleación de níquel-cromo-hierro, una aleación de níquel-silicio, una aleación de níquel-titanio, una aleación de plata, una aleación de plata-cobre (p. ej., plata esterlina) una aleación de plata-cobre-germanio (p. ej., plata esterlina Argentium), una aleación de plata-oro, una aleación de plata-cobre-oro, una aleación de plata-platino, una aleación de estaño, una aleación de estaño-cobre-antimonio, una aleación de estaño-plomo-cobre, una aleación de estaño-plomo-antimonio, una aleación de titanio, una aleación de titanio-vanadio-cromo, una aleación de titanio-aluminio, una aleación de titanio-aluminio-vanadio, una aleación de zinc, una aleación de zinc-cobre, una aleación de zinc-aluminio-magnesio-cobre, una aleación de circonio, una aleación de circonio-estaño o una combinación de estos. En ciertas realizaciones, el alojamiento de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico está formado a partir de un metal magnético, tal como un acero magnético recubierto de óxido.

El alojamiento incluye una barra de dispersión que se extiende a través del orificio. En algunas realizaciones, la barra de dispersión está integrada en el extremo distal del alojamiento. En otras realizaciones, la barra de dispersión está fijada irreversiblemente al extremo distal del alojamiento, tal como por ejemplo, con un adhesivo permanente, soldada al alojamiento o comoldeada con el alojamiento. En realizaciones, la barra de dispersión divide el orificio en el extremo distal del alojamiento en dos secciones. El tamaño (en área, mm²) de cada sección de orificio puede variar según el tamaño del alojamiento y el área superficial del detector, oscilando entre 0,5 y 250 mm², tal como de 1 a 200 mm², tal como de 1,5 a 125 mm², tal como de 2,5 a 75 mm² e incluyendo de 5 a 50 mm². Dependiendo de la posición de la barra de dispersión, cada sección de orificio puede tener el mismo o diferente tamaño. En algunas realizaciones, la barra de dispersión se coloca a través del orificio de modo que cada sección del orificio tenga el mismo tamaño. En otras realizaciones, la barra de dispersión se coloca a través del orificio de modo que cada orificio tenga un tamaño diferente. Cuando las secciones de orificio tienen diferentes tamaños, la diferencia entre la sección de orificio más grande y la sección de orificio más pequeña puede ser 5 % o más, tal como 10 % o más, tal como 15 % o más, tal como 25 % o más, tal como 50 % o más e incluyendo 75 % o más. Por ejemplo, la sección de orificio más grande puede ser de 0,5 mm² o mayor, tal como 1 mm² o mayor, tal como 2 mm² o mayor, tal como 5 mm² o mayor, tal como 7,5 mm² o mayor, tal como 10 mm² o mayor, tal como 15 mm² o mayor, tal como 25 mm² o mayor, tal como 50 mm² o mayor e incluyendo 100 mm² o mayor.

La barra de dispersión se puede colocar en cualquier lugar a lo largo de la parte distal del alojamiento dependiendo de la alineación del detector con la fuente de luz irradiante (como se describe con mayor detalle a continuación). Por ejemplo, en algunas realizaciones la barra de dispersión está colocada para extenderse a través del centro del orificio (es decir, dividiendo el orificio en secciones de orificio del mismo tamaño). En otras realizaciones, la barra de dispersión se coloca descentrada en el orificio (es decir, dividiendo el orificio en secciones de orificio de tamaño desigual), tal como descentrada 0,1 mm o más, tal como 0,5 mm o más, tal como 1 mm o más, tal como 1,5 mm o más, tal como 2 mm o más, tal como 2,5 mm o más, tal como 3 mm o más, tal como 3,5 mm o más, tal como 4 mm o más, tal como 4,5 mm o más, tal como 5 mm o más e incluyendo 5,5 mm o más descentrada en el orificio.

La barra de dispersión tiene un ancho que varía, oscilando de 0,1 mm a 2 mm, tal como de 0,2 mm a 1,9 mm, tal como de 0,3 mm a 1,8 mm, tal como de 0,4 mm a 1,7 mm, tal como de 0,5 mm a 1,6 mm, tal como de 0,6 mm a 1,5 mm e incluyendo 1 mm. En determinadas realizaciones, el ancho de la barra de dispersión es de 2 mm. La barra de dispersión puede tener cualquier forma conveniente, tal como una forma rectilínea (p. ej., cuadrados, rectángulos, trapecios, triángulos, hexágonos, etc.), una forma curvilínea (p. ej., círculos, óvalos, etc.), así como formas irregulares (p. ej., una porción inferior parabólica acoplada a una porción superior plana). En determinadas realizaciones, la barra de dispersión es rectangular.

En determinadas realizaciones, la barra de dispersión incluye una o más hendiduras. La abertura de hendidura puede tener cualquier forma conveniente, incluyendo, aunque no de forma limitativa, un óvalo, un rectángulo u otro polígono adecuado. En determinadas realizaciones, la abertura de hendidura es rectangular. Las dimensiones de la abertura de hendidura pueden variar, teniendo una longitud que varía de 1 mm a 10 mm, tal como de 1,25 mm a 9,5 mm, tal como de 1,5 mm a 9 mm, tal como de 2 mm a 8 mm, tal como de 2,5 mm a 7 mm, tal como de 3 mm a 6 mm e incluyendo de 3,5 mm a 5 mm. El ancho de la abertura de hendidura puede variar de 1 µm a 250 µm, tal como de 2 µm a 225 µm, tal como de 5 µm a 200 µm, tal como de 10 µm a 150 µm, e incluyendo de 15 µm a 125 µm, por ejemplo, una hendidura que tiene un ancho de apertura de 100 µm.

La barra de dispersión puede estar formada por el mismo o diferente material del alojamiento. En algunas realizaciones, la barra de dispersión está formada del mismo material que el alojamiento (p. ej., donde la barra de dispersión está integrada en el alojamiento). En otras realizaciones, la barra dispersa está formada de un material diferente. En algunos casos, la barra de dispersión está formada por un metal, tal como aluminio, cromo, cobalto, cobre, oro, indio, hierro, plomo, níquel, estaño, acero (p. ej., acero inoxidable), plata, zinc y combinaciones y aleaciones de los mismos. En otras realizaciones, el vástago está formado a partir de una aleación de metal, tal como una aleación de aluminio, una aleación de aluminio-litio, una aleación de aluminio-níquel-cobre, una aleación de aluminio-cobre, una aleación de aluminio-magnesio, una aleación de óxido de aluminio-magnesio, una aleación de aluminio-silicio, una aleación de aluminio-magnesio-manganeso-platino, una aleación de cobalto, una aleación de cobalto-cromo, una aleación de cobalto-wolframio, una aleación de cobalto-molibdeno-carbono, una aleación de cobalto-cromo-níquel-molibdeno-hierro y wolframio, una aleación de cobre, una aleación de cobre y arsénico, una aleación de cobre y berilio, una aleación de cobre y plata, una aleación de cobre y zinc (p. ej., latón), una aleación de cobre y estaño (p. ej., bronce), una aleación de cobre-níquel, una aleación de cobre-wolframio, una aleación de cobre-oro-plata, una aleación de cobre-níquel-hierro, una aleación de cobre-manganeso-estaño, una aleación de cobre-aluminio-zinc-estaño, una aleación de cobre-oro, una aleación de oro, una aleación de oro y plata, una aleación de indio, una aleación de indio y estaño, una aleación de óxido de indio y estaño, una aleación de hierro, una aleación de hierro y cromo (p. ej., acero), una aleación de hierro, cromo y níquel (p. ej., acero inoxidable), una aleación de hierro-silicio, una aleación de hierro-cromo-molibdeno, una aleación de hierro-carbono, una aleación de hierro-boro, una aleación de hierro-magnesio, una aleación de hierro-manganeso, una aleación de hierro-molibdeno, una aleación de hierro-níquel, una aleación de hierro-fósforo, una aleación de hierro-titanio, una aleación de hierro-vanadio, una aleación de plomo, una aleación de plomo-antimonio, una aleación de plomo-cobre, una aleación de plomo-estaño, una aleación de plomo-estaño-antimonio, una aleación de níquel, una aleación de níquel-manganeso-aluminio-silicio, una aleación de níquel-cromo, una aleación de níquel-cobre, una aleación de níquel, molibdeno-cromo-wolframio, una aleación de níquel-cobre-hierro-manganeso, una aleación de níquel-carbono, una aleación de níquel-cromo-hierro, una aleación de níquel-silicio, una aleación de níquel-titanio, una aleación de plata, una aleación de plata-cobre (p. ej., plata esterlina), una aleación de plata-cobre-germanio (p. ej., plata esterlina Argentium), una aleación de plata-oro, una aleación de plata-cobre-oro, una aleación de plata-platino, una aleación de estaño, una aleación de estaño-cobre-antimonio, una aleación de estaño-plomo-cobre, una aleación de estaño-plomo-antimonio, una aleación de titanio, una aleación de titanio-vanadio-cromo, una aleación de titanio-aluminio, una aleación de titanio-aluminio-vanadio, una aleación de zinc, una aleación de zinc-cobre, una aleación de zinc-aluminio-magnesio-cobre, una aleación de circonio, una aleación de circonio-estaño o una combinación de estos. En ciertos casos, la barra de dispersión está formada por un metal magnético, tal como un acero magnético recubierto de óxido.

En otros casos, la barra de dispersión está formada a partir de un plástico, tal como un plástico rígido, material polimérico o termoplástico, que incluye policarbonatos, cloruro de polivinilo (PVC), poliuretanos, poliéteres, poliamidas, poliimidas o copolímeros de estos termoplásticos, tales como PETG (tereftalato de polietileno modificado con glicol), entre otros materiales plásticos poliméricos. En ciertas realizaciones, la barra de dispersión está formada a partir de un poliéster, donde los poliésteres de interés pueden incluir, aunque no de forma limitativa, poli(tereftalatos de alquileno) tales como poli(tereftalato de etileno) (PET), PET grado botella (un copolímero elaborado a base de monoetilenglicol, ácido tereftálico y otros comonomeros tales como ácido isoftálico, ciclohexeno dimetanol, etc.), poli(tereftalato de butileno) (PBT) y poli(tereftalato de hexametileno); poli(adipatos de alquileno) tales como poli(adipato de etileno), poli(adipato de 1,4-butileno) y poli(adipato de hexametileno); poli(suberatos de alquileno) tales como poli(suberato de etileno); poli(sebacatos de alquileno) tales como poli(sebacato de etileno); poli(ϵ -caprolactona) y poli(β -propiolactona); poli(isofteralatos de alquileno) tales como poli(isofteralato de etileno); poli(2,6-naftalendicarboxilatos de alquileno) tales como poli(2,6-naftalendicarboxilato de etileno); poli(alquilensulfonil-4,4'-dibenzoatos) tales como poli(etilensulfonil-4,4'-dibenzoato); poli(p-fenilendicarboxilatos de alquileno) tales como poli(p-fenilendicarboxilato de etileno); poli(trans-1,4-ciclohexanodilalquilendicarboxilatos) tales como poli(trans-1,4-ciclohexanodilalquilendicarboxilato); poli(alquilendicarboxilatos de 1,4-ciclohexanodimetileno) tales como poli(dicarboxilato de 1,4-ciclohexanodimetilenoetileno); poli([2.2]-bicyclooctano-1,4-dimetileno alquilendicarboxilatos) tales

como poli([2.2.2]-bicyclooctano-1,4-dimetileno etilendicarboxilato); polímeros y copolímeros de ácido láctico tales como (S)-polilactida, (R,S)-polilactida, poli(tetrametilglicolida) y poli(lactida-co-glicolida); y policarbonatos de bisfenol A, 3,3'-dimetilbisfenol A, 3,3',5,5'-tetraclorobisfenol A, 3,3',5,5'-tetrametilbisfenol A; poliamidas tales como poli(p-fenilen tereftalamida); tereftalato de polietileno (p. ej., Tereftalato de polietileno Mylar™), etc.

5 Como se describe con mayor detalle a continuación, una barra de cubierta está configurada para acoplarse reversiblemente con la barra de dispersión. En realizaciones, una o ambas de la barra de dispersión y la barra de cubierta pueden incluir un sujetador para inmovilizar la barra de cubierta a la barra de dispersión. En algunas realizaciones, la barra de dispersión incluye un sujetador. En otras realizaciones, la barra de cubierta incluye un
10 sujetador. En ciertas realizaciones, la barra de dispersión y la barra de cubierta incluyen ambas un sujetador. Los sujetadores pueden incluir, aunque no de forma limitativa, pestillos, protuberancias, ranuras, adhesivos no permanentes (p. ej., un adhesivo sensible a la presión), sujetadores de gancho y presilla o uno o más imanes. En algunos casos, la barra de dispersión y la barra de cubierta están acopladas reversiblemente con un pestillo. En otras realizaciones, la barra de dispersión y la barra de cubierta están acopladas reversiblemente con un sujetador de gancho y presilla. Aún en otras realizaciones, la barra de dispersión y la barra de cubierta están acopladas reversiblemente con uno o más imanes. En ciertas realizaciones, una o ambas de la barra de dispersión y la barra de cubierta son magnéticas y están acopladas reversiblemente mediante una fuerza magnética.

20 El extremo distal del alojamiento también puede incluir uno o más alineadores para colocar la barra de cubierta sobre la barra de dispersión. Por ejemplo, el extremo distal del alojamiento puede incluir 2 o más alineadores, tal como 3 o más alineadores, tal como 4 o más alineadores e incluyendo 6 o más alineadores. Los alineadores pueden colocarse encima de la barra de dispersión o adyacentes a la barra de dispersión. En un ejemplo, los alineadores se colocan adyacentes a la barra de dispersión. En otro ejemplo, el alineador se coloca encima de la barra de dispersión. Los
25 alineadores adecuados pueden incluir, aunque no de forma limitativa, soportes, clips, pestillos, ranuras o protuberancias. En algunas realizaciones, el alineador incluye dos soportes adyacentes a la barra de dispersión. En otras realizaciones, el alineador incluye dos pestillos adyacentes a la barra de dispersión. Aún en otras realizaciones, el alineador incluye una o más protuberancias en la barra de dispersión. En otras realizaciones más, el alineador incluye una o más ranuras en la barra de dispersión. En otras realizaciones más, el alineador incluye una o más muescas en la barra de dispersión. En ciertas realizaciones, el sujetador (como se ha descrito anteriormente) está configurado para acoplarse con un alineador. Por ejemplo, el sujetador puede ser uno o más imanes que están configurados para colocarse en una ranura o muesca. La colocación del imán en la muesca es suficiente, en estas realizaciones, para alinear y sujetar la barra de cubierta a la barra de dispersión.

35 Como se resumió anteriormente, la unidad de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión incluye una barra de cubierta que está configurada para acoplarse reversiblemente con la barra de dispersión. En realizaciones, la barra de cubierta tiene un ancho que es igual o mayor que la barra de dispersión. Por ejemplo, el ancho de las barras de cubierta de interés puede oscilar de 2 mm a 10 mm, tal como de 2,1 mm a 9,5 mm, tal como de 2,2 mm a 9 mm, tal como de 2,3 mm a 8,5 mm, tal como de 2,4 mm a 8 mm, tal como de 2,5 mm a 7,5 mm e incluyendo de 3 mm a 6 mm. La barra de cubierta puede tener cualquier forma conveniente, tal como una forma rectilínea (p. ej., cuadrados, rectángulos, trapecios, triángulos, hexágonos, etc.), una forma curvilínea (p. ej., círculos, óvalos, etc.), así como formas irregulares (p. ej., una porción inferior parabólica acoplada a una porción superior plana). En un ejemplo, la barra de cubierta es rectangular. En otro ejemplo, la barra de cubierta es semicircular. En otro ejemplo, la barra de cubierta tiene un ancho asimétrico donde un primer extremo tiene un ancho que es diferente del ancho de un segundo extremo. Por ejemplo, la barra de cubierta puede ser un polígono asimétrico donde un primer extremo tiene un ancho que es mayor que el ancho del segundo extremo. En otras realizaciones, la barra de cubierta es un polígono asimétrico donde un primer extremo tiene un ancho que es menor que el ancho del segundo extremo. El ancho en cada extremo puede variar de 2 mm a 10 mm, tal como de 2,5 mm a 7,5 mm e incluyendo de 3 mm a 6 mm. En ciertas realizaciones, la barra de cubierta es un polígono asimétrico que tiene un primer extremo que tiene un ancho de 2 a 3 mm y un segundo extremo que tiene un ancho de 4 a 5 mm. Por ejemplo, la barra de cubierta puede ser un polígono asimétrico que tiene un primer extremo de 2 mm de ancho y un segundo extremo de 5 mm de ancho.

55 Como se describe con mayor detalle a continuación, la barra de cubierta tiene una forma y un tamaño que dependen de las partículas en la muestra (p. ej., en una corriente de flujo) y de la fuente de luz utilizada para irradiar la muestra. Por ejemplo, cuando las partículas en la muestra tienen de 4 a 10 veces el tamaño de la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la muestra, la barra de cubierta es poligonal o curvilínea y tiene un ancho que varía de 1 mm a 5 mm, tal como de 1,5 mm a 4 mm e incluyendo de 2 mm a 3 mm. Por ejemplo, cuando las partículas de la muestra tienen de 4 a 10 veces el tamaño de la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la muestra, la barra de cubierta tiene un ancho de 2 mm. En otras realizaciones, donde las partículas en la muestra tienen menos de 4 veces el tamaño de la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la muestra, la barra de cubierta es poligonal o curvilínea y tiene
60 un ancho que varía de 2 mm a 10 mm, tal como de 2,5 mm a 9 mm, tal como de 3 mm a 8 mm e incluyendo de 3,5 mm a 6 mm. Por ejemplo, cuando las partículas en la muestra tienen menos de 4 veces el tamaño de la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la muestra, la barra de cubierta puede tener un ancho de 2,5 mm, 3 mm, 3,5 mm, 4 mm, 4,5 mm, 5 mm, 5,5 mm o 6 mm.

65 En algunas realizaciones, la barra de cubierta tiene una forma y un tamaño que dependen de las propiedades de la fuente de luz irradiante, tal como el perfil del haz láser o el tamaño del punto láser. En algunos casos, la barra de

cubierta depende del perfil del haz de luz láser. Cuando el perfil del haz es circular u ovalado, la barra de cubierta puede ser poligonal o curvilínea y tener un ancho igual o mayor que la dimensión más grande del perfil del haz. Por ejemplo, cuando el perfil del haz es circular, la barra de cubierta es del mismo tamaño o mayor que el diámetro del haz láser, tal como 0,1 mm mayor o más, tal como 0,2 mm mayor o más, tal como 0,3 mm mayor o más, tal como 0,4 mm mayor o más, tal como 0,5 mm mayor o más e incluyendo 1 mm mayor o más que el diámetro del perfil del haz láser.

En determinadas realizaciones, la barra de cubierta incluye una o más hendiduras. La abertura de hendidura puede tener cualquier forma conveniente, incluyendo, aunque no de forma limitativa, un óvalo, un rectángulo u otro polígono adecuado. En determinadas realizaciones, la abertura de hendidura es rectangular. Las dimensiones de la abertura de hendidura pueden variar, teniendo una longitud que varía de 1 mm a 10 mm, tal como de 1,25 mm a 9,5 mm, tal como de 1,5 mm a 9 mm, tal como de 2 mm a 8 mm, tal como de 2,5 mm a 7 mm, tal como de 3 mm a 6 mm e incluyendo de 3,5 mm a 5 mm. El ancho de la abertura de hendidura puede variar de 1 μ m a 250 μ m, tal como de 2 μ m a 225 μ m, tal como de 5 μ m a 200 μ m, tal como de 10 μ m a 150 μ m, e incluyendo de 15 μ m a 125 μ m, por ejemplo, una hendidura que tiene un ancho de apertura de 100 μ m.

En otros casos, el ancho de la barra de cubierta es igual o mayor que el ancho del punto de haz de la fuente de luz sobre la muestra. Por ejemplo, cuando el punto de haz de la fuente de luz es un punto del haz láser sobre la muestra, el ancho de la barra de cubierta es igual o mayor que el diámetro del punto del haz láser sobre la muestra, tal como 0,1 mm mayor o más, tal como 0,2 mm mayor o más, tal como 0,3 mm mayor o más, tal como 0,4 mm mayor o más, tal como 0,5 mm mayor o más e incluyendo 1 mm mayor o más que el diámetro del punto del haz láser en la muestra.

Como se describió anteriormente, una o más de la barra de cubierta y la barra de dispersión pueden incluir un sujetador para acoplar irreversiblemente la barra de cubierta a la barra de dispersión. En algunas realizaciones, la barra de cubierta incluye uno o más sujetadores. Los sujetadores en la barra de cubierta de interés pueden incluir, aunque no de forma limitativa, pestillos, protuberancias, ranuras, adhesivos no permanentes (p. ej., un adhesivo sensible a la presión), sujetadores de gancho y presilla o uno o más imanes. En algunos casos, la barra de cubierta incluye uno o más pestillos. En otras realizaciones, la barra de cubierta incluye uno o más sujetadores de gancho y presilla. En otras realizaciones más, la barra de cubierta incluye uno o más imanes.

La barra de cubierta puede estar formada por el mismo o diferente material que la barra de dispersión. En algunas realizaciones, la barra de cubierta está formada del mismo material que la barra de dispersión. En otras realizaciones, la barra de cubierta y la barra de dispersión están formadas por materiales diferentes. En algunos casos, la barra de cubierta está formada por un metal, tal como aluminio, cromo, cobalto, cobre, oro, indio, hierro, plomo, níquel, estaño, acero (p. ej., acero inoxidable), plata, zinc y combinaciones y aleaciones de los mismos. En otras realizaciones, el vástago está formado a partir de una aleación de metal, tal como una aleación de aluminio, una aleación de aluminio-litio, una aleación de aluminio-níquel-cobre, una aleación de aluminio-cobre, una aleación de aluminio-magnesio, una aleación de óxido de aluminio-magnesio, una aleación de aluminio-silicio, una aleación de aluminio-magnesio-manganeso-platino, una aleación de cobalto, una aleación de cobalto-cromo, una aleación de cobalto-wolframio, una aleación de cobalto-molibdeno-carbono, una aleación de cobalto-cromo-níquel-molibdeno-hierro y wolframio, una aleación de cobre, una aleación de cobre y arsénico, una aleación de cobre y berilio, una aleación de cobre y plata, una aleación de cobre y zinc (p. ej., latón), una aleación de cobre y estaño (p. ej., bronce), una aleación de cobre-níquel, una aleación de cobre-wolframio, una aleación de cobre-oro-plata, una aleación de cobre-níquel-hierro, una aleación de cobre-manganeso-estaño, una aleación de cobre-aluminio-zinc-estaño, una aleación de cobre-oro, una aleación de oro, una aleación de oro y plata, una aleación de indio, una aleación de indio y estaño, una aleación de óxido de indio y estaño, una aleación de hierro, una aleación de hierro y cromo (p. ej., acero), una aleación de hierro, cromo y níquel (p. ej., acero inoxidable), una aleación de hierro-silicio, una aleación de hierro-cromo-molibdeno, una aleación de hierro-carbono, una aleación de hierro-boro, una aleación de hierro-magnesio, una aleación de hierro-manganeso, una aleación de hierro-molibdeno, una aleación de hierro-níquel, una aleación de hierro-fósforo, una aleación de hierro-titanio, una aleación de hierro-vanadio, una aleación de plomo, una aleación de plomo-antimonio, una aleación de plomo-cobre, una aleación de plomo-estaño, una aleación de plomo-estaño-antimonio, una aleación de níquel, una aleación de níquel-manganeso-aluminio-silicio, una aleación de níquel-cromo, una aleación de níquel-cobre, una aleación de níquel, molibdeno-cromo-wolframio, una aleación de níquel-cobre-hierro-manganeso, una aleación de níquel-carbono, una aleación de níquel-cromo-hierro, una aleación de níquel-silicio, una aleación de níquel-titanio, una aleación de plata, una aleación de plata-cobre (p. ej., plata esterlina) una aleación de plata-cobro-germanio (p. ej., plata esterlina Argentium), una aleación de plata-oro, una aleación de plata-cobre-oro, una aleación de plata-platino, una aleación de estaño, una aleación de estaño-cobre-antimonio, una aleación de estaño-plomo-cobre, una aleación de estaño-plomo-antimonio, una aleación de titanio, una aleación de titanio-vanadio-cromo, una aleación de titanio-aluminio, una aleación de titanio-aluminio-vanadio, una aleación de zinc, una aleación de zinc-cobre, una aleación de zinc-aluminio-magnesio-cobre, una aleación de circonio, una aleación de circonio-estaño o una combinación de estos. En ciertos casos, la barra de cubierta está formada por un metal magnético, tal como un acero magnético recubierto de óxido.

Los tapones de dispersión de detector óptico de la invención pueden tener puntos para imanes muy pequeños, así como características de alineación. Las barras de cubierta que se acoplan con estos tapones de dispersión de detector óptico se emplean en las unidades de tapón de dispersión de detector óptico finales. Cuando se desee, los tapones

de dispersión de detector óptico y/o las barras de cubierta pueden fabricarse de acero magnético recubierto de óxido como se analizó anteriormente. Estas características permiten una colocación fácil y consistente de varios estilos de barra de cubierta y el recubrimiento de óxido negro minimiza el reflejo de la superficie de la barra de cubierta.

5 Para detectar la dispersión de una partícula que es mayor que la longitud de onda del láser, la dispersión en dirección hacia delante tiene un máximo en la dirección del láser. Para una partícula mucho más pequeña que la longitud de onda del láser, la dispersión ya no tiene un máximo y disminuye mucho. En el caso de la partícula pequeña, es deseable bloquear la mayor cantidad posible del láser incidente para poder ver la firma de dispersión tenue de las partículas pequeñas. Debido a que la dispersión no alcanza su punto máximo en la dirección hacia delante, es posible utilizar una barra de dispersión gruesa, eliminando la luz no deseada y dejando pasar suficiente luz dispersa para detectar la partícula.

15 En las Figuras 2 a 6 se representan ejemplos de unidades de tapón de dispersión de detector óptico que tienen barras de cubierta que coinciden reversiblemente. La Figura 2 representa dos unidades (201a y 201b) de tapón de dispersión de detector óptico diferentes acopladas a dos detectores (202a y 202b). Como se muestra en la Figura 2, las barras (203a y 203b) de cubierta acopladas reversiblemente se alinean con la luz 204 irradiante incidente que incide sobre la corriente 205 de flujo, reduciendo de esta manera la cantidad de luz incidente de la fuente de luz irradiante que alcanza la superficie del detector.

20 La Figura 3 representa dos unidades (301a y 301b) de tapón de detector óptico diferentes acopladas a dos detectores (302a y 302b). En la Figura 3, 302a está configurado para detectar la luz dispersa y fluorescente que emana de la corriente (305), mientras que 302b está configurado para medir la luz dispersa en la dirección hacia delante. En otras realizaciones, cualquiera de los detectores puede configurarse para detectar solo luz dispersa, una combinación de luz dispersa y fluorescente, o solo luz fluorescente. La luz dispersa y fluorescente son el resultado de la interacción de las células o partículas transportadas en la corriente con un solo láser o con varios láseres. En la realización representada, hay 5 láseres de diferentes longitudes de onda (amarillo-verde, azul, violeta, UV y rojo).

25 Las Figuras 4A-4B representan una unidad de tapón de dispersión de detector óptico según ciertas realizaciones. La Figura 4A representa el tapón 400 de dispersión de detector óptico sin barra de cubierta acoplada. El tapón 400 de dispersión de detector óptico incluye un alojamiento 401 que tiene un extremo proximal y un extremo distal, teniendo el extremo distal un orificio 402. La barra 403 de dispersión está fijada al alojamiento y se extiende a través del orificio 402. Como se puede ver en las figuras, el tapón 400 de dispersión de detector óptico tiene puntos 404a y 404b para imanes muy pequeños que acoplan reversiblemente una barra de cubierta con el alojamiento del tapón de dispersión de detector óptico. La Figura 4A también representa alineadores 405a y 405b que están configurados para alinear la barra de cubierta con la barra 403 de dispersión. Estas características permiten una colocación fácil y consistente de varios estilos o configuraciones de barras de cubierta.

30 La Figura 4B representa el tapón 400 de dispersión de detector óptico acoplado con la barra 406 de cubierta. La barra 406 de cubierta está alineada mediante alineadores 405a y 405b y sujeta al tapón 400 de dispersión de detector óptico mediante pequeños imanes (no mostrados). Las barras de cubierta mostradas en las Figuras 4A-4B utilizaron acero magnético recubierto de óxido que minimiza la reflexión de la superficie de la barra de cubierta. La capa de óxido negro minimiza el reflejo de la superficie de la barra de dispersión.

35 La Figura 5 representa una ilustración de una vista superior y una vista lateral de un tapón de dispersión de detector óptico según ciertas realizaciones. El tapón 500 de dispersión de detector óptico incluye un alojamiento 501 con un extremo distal que tiene un orificio 502. La barra 503 de dispersión está fijada al alojamiento y se extiende a través del orificio 502. El extremo distal del alojamiento 501 incluye orificios 504a y 504b configurados para colocar sujetadores magnéticos para acoplarse con las barras 506a-506g de cubierta. El tapón 500 de dispersión de detector óptico también incluye alineadores 505a y 505b para colocar la placa de cubierta con la barra 503 de dispersión. La Figura 5 también representa barras 506a-506g de cubierta que difieren en forma o tamaño y permiten ajustar la cantidad de luz que llega a la superficie del detector acoplado. Las barras 506a, 506b, 506c, 506d y 506e de cubierta son ejemplos de barras de cubierta rectangulares con diferentes anchos. La barra 506f de cubierta es un ejemplo de una barra de cubierta poligonal asimétrica donde un primer extremo tiene un primer ancho y un segundo extremo tiene un segundo ancho, donde el primer ancho es mayor que el segundo ancho. La barra 506g de cubierta es un ejemplo de barra de cubierta semicircular curvilínea.

40 La Figura 6 representa una ilustración de una vista superior y una vista lateral de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico según ciertas realizaciones. El tapón 600 de dispersión de detector óptico que tiene un alojamiento 601 está acoplado con la barra 606d de cubierta usando alineadores 605a y 605b. Como se ha descrito anteriormente, la barra 606d de cubierta puede retirarse del tapón 600 de dispersión de detector óptico y reemplazarse con una cualquiera de las barras 606b, 606c, 606d, 606f y 606g de cubierta. Las barras 606b, 606c, 606d y 606e de cubierta son ejemplos de barras de cubierta rectangulares que tienen diferentes anchos. La barra 606f de cubierta es otro ejemplo de una barra de cubierta poligonal asimétrica donde un primer extremo tiene un primer ancho y un segundo extremo tiene un segundo ancho, donde el primer ancho es mayor que el segundo ancho. La barra 606g de cubierta es otro ejemplo de barra de cubierta semicircular y curvilínea.

En algunos casos, la unidad de tapón de dispersión de detector óptico está configurada para acoplar un detector a uno o más componentes de ajuste óptico. Por “ajuste óptico” se entiende que la luz propagada desde la muestra cambia según se desee antes de ser transportada al detector para su medición. Por ejemplo, el ajuste óptico puede ser para enfocar la luz recolectada o para separar o bloquear longitudes de onda de luz específicas. Los componentes de ajuste óptico pueden ser cualquier dispositivo o estructura conveniente que proporcione el cambio deseado en la luz recolectada, y pueden incluir, aunque no de forma limitativa, lentes, filtros, espejos, estenopos, hendiduras, rejillas, refractores de luz, y cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el componente de ajuste óptico es una lente de enfoque. En otras realizaciones, el componente de ajuste óptico es un separador de longitud de onda. El término “separador de longitud de onda” se utiliza en la presente memoria en su sentido convencional para referirse a un protocolo óptico para separar la luz policromática en sus longitudes de onda componentes para su detección. La separación de longitud de onda, según ciertas realizaciones, puede incluir hacer pasar o bloquear selectivamente longitudes de onda específicas o intervalos de longitud de onda de la luz policromática. Los protocolos de separación de longitud de onda de interés que pueden ser parte de o combinados con las boquillas de celda de flujo objeto incluyen, aunque no de forma limitativa, vidrio coloreado, filtros de paso de banda, filtros de interferencia, combinaciones de los mismos, entre otros protocolos de separación de longitud de onda.

El componente de ajuste óptico puede configurarse para colocarse en el extremo distal del alojamiento o a una distancia que sea de 0,01 mm o más desde el extremo distal del alojamiento, tal como 0,05 mm o más, tal como 0,1 mm o más, tal como 0,25 mm o más, tal como 0,5 mm o más, tal como 0,75 mm o más, tal como 1 mm o más, tal como 2 mm o más, tal como 3 mm o más e incluyendo 4 mm o más desde el extremo distal del alojamiento.

Sistemas para medir luz a partir de una muestra

Los aspectos de la presente descripción incluyen sistemas para medir la luz emitida por una muestra en una corriente de flujo. En realizaciones de la presente descripción, los sistemas en cuestión están configurados para medir una o más de fluorescencia y luz dispersa de una muestra (p. ej., en una corriente de flujo) mientras se reduce la cantidad de luz incidente de la fuente de luz irradiante que alcanza la superficie del detector. Como se resumió anteriormente, los sistemas incluyen un detector y una unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

La unidad de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión está configurada para acoplarse al extremo de la superficie de detección del detector. En realizaciones, uno o ambos de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico y el detector pueden incluir un sujetador para inmovilizar la unidad de tapón de dispersión de detector óptico al detector. En algunas realizaciones, la unidad de tapón de dispersión de detector óptico incluye un sujetador. En otras realizaciones, el detector incluye un sujetador. En ciertas realizaciones, tanto la unidad de tapón de dispersión de detector óptico como el detector incluyen un sujetador. Se puede emplear cualquier protocolo de sujeción conveniente, donde los sujetadores de interés pueden incluir, aunque no de forma limitativa, protuberancias, ranuras, pestillos, agujeros o una rosca de tornillo. En algunas realizaciones, uno o más de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico y el detector incluyen una protuberancia. En otras realizaciones, uno o más de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico y el detector incluyen una ranura. En otras realizaciones más, la unidad de tapón de dispersión de detector óptico incluye una rosca de tornillo y la unidad de tapón de dispersión de detector óptico está roscada con el detector.

Los sistemas de interés pueden incluir uno o más detectores acoplados a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico como se describe en el presente documento. Por ejemplo, los sistemas pueden incluir 2 o más detectores, tales como 3 o más detectores e incluyendo 5 o más detectores, cada uno acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico. Cuando el sistema incluye dos o más detectores, la barra de cubierta de cada unidad de tapón de dispersión de detector óptico puede ser igual o diferente. En algunas realizaciones, cada detector está acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene la misma barra de cubierta. En otras realizaciones, cada detector está acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta diferente. En algunas realizaciones, los sistemas incluyen un primer detector acoplado a una primera unidad de tapón de dispersión de detector óptico y un segundo detector acoplado a una segunda unidad de tapón de dispersión de detector óptico. En algunos casos, la primera unidad de tapón de dispersión de detector óptico incluye una barra de cubierta rectangular y la segunda unidad de tapón de dispersión de detector óptico incluye una barra de cubierta curvilínea. En otros casos, la primera unidad de tapón de dispersión de detector óptico incluye una barra de cubierta rectangular y la segunda unidad de tapón de dispersión de detector óptico incluye una barra de cubierta poligonal asimétrica. En algunas realizaciones, el primer detector es un detector de fluorescencia y el segundo detector es un detector de dispersión. En otras realizaciones, el primer detector es un detector de dispersión frontal y el segundo detector es un detector de dispersión lateral. En otras realizaciones más, el primer detector es un detector de dispersión lateral y el segundo detector es un detector de dispersión frontal.

En un ejemplo, los sistemas de interés incluyen un detector de dispersión lateral acoplado a una unidad de tapón de dispersión óptica que tiene una barra de cubierta poligonal asimétrica y un detector de dispersión frontal acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta rectangular. En otro ejemplo, los sistemas incluyen un detector de dispersión lateral acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta rectangular y un detector de dispersión frontal acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta poligonal asimétrica. En otro ejemplo más, los sistemas incluyen un detector de dispersión lateral acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene

- una barra de cubierta rectangular y un detector de dispersión frontal acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta curvilínea (p. ej., semicircular). En otro ejemplo más, los sistemas incluyen un detector de dispersión lateral acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta curvilínea (p. ej., semicircular) y un detector de dispersión frontal acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta poligonal asimétrica. En otro ejemplo más, los sistemas incluyen un detector de dispersión lateral acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta curvilínea (p. ej., semicircular) y un detector de dispersión frontal acoplado a una unidad de tapón de dispersión de detector óptico que tiene una barra de cubierta rectangular.
- Los detectores de interés pueden incluir, pero sin limitarse a, sensores ópticos o fotodetectores, tales como sensores de píxeles activos (APS), fotodiodos de avalancha, sensores de imagen, dispositivos de carga acoplada (CCD), dispositivos de carga acoplada intensificada (ICCD), diodos emisores de luz, contadores de fotones, bolómetros, detectores piroeléctricos, fotorresistores, células fotovoltaicas, fotodiodos, tubos fotomultiplicadores, fototransistores, fotoconductores o fotodiodos de puntos cuánticos, y combinaciones de los mismos, entre otros fotodetectores. En determinadas realizaciones, la luz transmitida se mide con un dispositivo de carga acoplada (CCD), dispositivos de carga acoplada de semiconductores (CCD), sensores de píxeles activos (APS), sensores de imagen complementarios de semiconductores de óxido metálico (CMOS), o sensores de imagen de semiconductores de óxido metálico de tipo N (NMOS). En algunas realizaciones, el sensor de imágenes es una cámara CCD. Por ejemplo, la cámara puede ser una cámara CCD multiplicadora de electrones (EMCCD) o una cámara CCD intensificada (ICCD). En otras realizaciones, el sensor de formación de imágenes es una cámara de tipo CMOS. Cuando la luz fluorescente o dispersa se mide con un CCD, el área superficial de detección activa del CCD puede variar, tal como desde 0,01 cm² a 10 cm², tal como desde 0,05 cm² a 9 cm², tal como desde 0,1 cm² a 8 cm², tal como desde 0,5 cm² a 7 cm², e incluyendo desde 1 cm² a 5 cm².
- El número de fotodetectores en los sistemas en cuestión puede variar, según se desee, tal como 1 o más, tal como 2 o más, tal como 3 o más, tal como 5 o más e incluyendo 10 o más fotodetectores. Cuando los sistemas objeto incluyen más de un fotodetector, cada fotodetector puede ser el mismo, o la colección de dos o más fotodetectores puede ser una combinación de diferentes fotodetectores.
- En ciertas realizaciones, el detector es un protocolo de detección de posición, que incluye, aunque no de forma limitativa, fotosensores de detección de posición, fotodetectores, sensores de píxeles activos (APS) y fotodiodos de cuadrante. En determinadas realizaciones, el detector es un fotodiodo de cuadrante. Cuando el detector es un fotodiodo de cuadrante, el área superficial de detección activa de cada región del fotodiodo de cuadrante puede variar, tal como desde 0,01 cm² a 10 cm², tal como desde 0,05 cm² a 9 cm², tal como desde 0,1 cm² a 8 cm², tal como desde 0,5 cm² a 7 cm², e incluyendo desde 1 cm² a 5 cm². En algunos casos, el detector es una matriz de fotodiodos que tiene más de un fotodiodo, tal como dos o más fotodiodos, tal como tres o más, tal como cinco o más e incluyendo 10 o más fotodiodos.
- El detector puede colocarse a una distancia de la muestra dependiendo del tipo de fuente de luz irradiante y las características de la muestra (p. ej., tamaños de partículas en la muestra). Por ejemplo, el detector puede colocarse a 0,01 mm o más de la muestra, tal como a 0,05 mm o más, tal como a 0,1 mm o más, tal como a 0,5 mm o más, tal como a 1 mm o más, tal como a 2,5 mm o más, tal como a 5 mm o más, tal como a 10 mm o más, tal como a 15 mm o más, tal como a 25 mm o más, e incluyendo a 50 mm o más de la muestra. El detector también puede colocarse en un ángulo con respecto a la muestra que varía. Por ejemplo, el detector puede colocarse en un ángulo con respecto a la muestra que varía de 10° a 90°, tal como de 15° a 85°, tal como de 20° a 80°, tal como de 25° a 75°, e incluyendo de 30° a 60°. En ciertas realizaciones, el detector se coloca en un ángulo de 90° con respecto a la muestra. En algunas realizaciones, los sistemas incluyen un detector que está colocado para detectar luz dispersa hacia adelante desde la muestra. En otras realizaciones, los sistemas incluyen un detector que está colocado para detectar la luz dispersa lateral de la muestra. Aún en otras realizaciones, los sistemas incluyen un detector que está colocado para detectar la fluorescencia de la muestra.
- En algunas realizaciones, los sistemas de interés incluyen una o más fuentes de luz para irradiar una muestra. La fuente de luz puede ser una fuente de luz de banda ancha, que emite luz con una amplia gama de longitudes de onda, tal como, por ejemplo, que abarca 50 nm o más, tal como 100 nm o más, tal como 150 nm o más, tal como 200 nm o más, tal como 250 nm o más, tal como 300 nm o más, tal como 350 nm o más, tal como 400 nm o más, e incluyendo abarcar 500 nm o más. Por ejemplo, una fuente de luz de banda ancha adecuada emite luz con longitudes de onda de 200 nm a 1500 nm. Otro ejemplo de una fuente de luz de banda ancha adecuada incluye una fuente de luz que emite luz con longitudes de onda de 400 nm a 1000 nm. Puede emplearse cualquier protocolo de fuente de luz de banda ancha conveniente, tal como una lámpara halógena, una lámpara de arco de deuterio, una lámpara de arco de xenón, una fuente de luz de banda ancha acoplada con fibra estabilizada, un LED de banda ancha con un espectro continuo, un diodo emisor superluminiscente, un diodo emisor de luz semiconductor, una fuente de luz blanca LED de amplio espectro, una fuente de luz blanca integrada multiLED, entre otras fuentes de luz de banda ancha, o cualquier combinación de las mismas.
- En otras realizaciones, la fuente de luz es una fuente de luz de banda estrecha que emite una longitud de onda particular o un intervalo estrecho de longitudes de onda. En algunos casos, las fuentes de luz de banda estrecha

emiten luz con un intervalo estrecho de longitudes de onda, tal como, por ejemplo, 50 nm o menos, tal como 40 nm o menos, tal como 30 nm o menos, tal como 25 nm o menos, tal como 20 nm o menos, tal como 15 nm o menos, tal como 10 nm o menos, tal como 5 nm o menos, tal como 2 nm o menos, e incluyendo fuentes de luz que emitan una longitud de onda específica de luz (es decir, luz monocromática). Puede emplearse cualquier protocolo de fuente de luz de banda estrecha conveniente, tal como un LED de longitud de onda estrecho, diodo láser o una fuente de luz de banda ancha acoplada a uno o más filtros de paso de banda ópticos, rejillas de difracción, monocromadores o cualquier combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, la fuente de luz es un láser. En algunos casos, los sistemas objeto incluyen un láser de gas, tal como un láser de helio-neón, un láser de argón, un láser kriptón, un láser de xenón, un láser de nitrógeno, un láser de CO₂, un láser de CO, un láser excímero de argón-flúor (ArF), un láser excímero de kriptón-flúor (KrF), un láser excímero de cloro de xenón (XeCl), o un láser excímero de xenón (XeF), o una combinación de los mismos. En otros casos, los sistemas objeto incluyen un láser de tinte, tal como un láser de estilbena, de cumarina o de rodamina. En otros casos, los láseres de interés incluyen un láser de metal-vapor, tal como un láser de helio-cadmio (HeCd), un láser de helio-mercurio (HeHg), un láser de helio-selenio (HeSe), un láser de helio-plata (HeAg), un láser de estroncio, un láser de neón-cobre (NeCu), un láser de cobre o un láser de oro, y combinaciones de los mismos. En aún otros casos, los sistemas objeto incluyen un láser de estado sólido, tal como un láser de rubí, un láser Nd:YAG, un láser Nd:CrYAG, un láser Er:YAG, un láser Nd:YLF, un láser Nd:YVO₄, un láser Nd:YCa₄O(BO₃)₃, un láser Nd:YCOB, un láser de zafiro de titanio, un láser de tulio YAG, un láser de iterbio YAG, un láser de iterbio₂O₃, o láseres dopados con cerio, y combinaciones de los mismos.

Los sistemas objeto pueden incluir una o más fuentes de luz, según se desee, tales como dos o más fuentes de luz, tales como tres o más fuentes de luz, tales como cuatro o más fuentes de luz, tales como cinco o más fuentes de luz, e incluyendo diez o más fuentes de luz. La fuente de luz puede incluir cualquier combinación de tipos de fuentes de luz. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los sistemas objeto incluyen una matriz de láseres, tal como una matriz que tenga uno o más láseres de gas, uno o más láseres de tinte, y uno o más láseres de estado sólido. En otros casos, cuando se emplean dos fuentes de luz, una primera fuente de luz puede ser una fuente de luz blanca de banda ancha (p. ej., LED de luz blanca de banda ancha), y una segunda fuente de luz puede ser una fuente de luz cercana a infrarroja de banda ancha (p. ej., LED de banda ancha cercano a infrarrojo). En otros casos, cuando se emplean dos fuentes de luz, una primera fuente de luz puede ser una fuente de luz blanca de banda ancha (p. ej., LED de luz blanca de banda ancha) y la segunda fuente de luz puede ser una fuente de luz de espectro estrecho (p. ej., LED o láser cercano a infrarrojo). En aún otros casos, la fuente de luz es una pluralidad de fuentes de luz de banda estrecha que emiten, cada una, longitudes de onda específicas, tales como dos o más láseres, tales como tres o más láseres, incluyendo 5 o más láseres. En otros casos más, la fuente de luz es una matriz de dos o más LED, tal como una matriz de tres o más LED, tal como una matriz de cinco o más LED, incluyendo una matriz de diez o más LED.

En algunas realizaciones, las fuentes de luz emiten luz con longitudes de onda que varían de 200 nm a 1500 nm, tal como de 250 nm a 1250 nm, tal como de 300 nm a 1000 nm, tal como de 350 nm a 900 nm, e incluyendo de 400 nm a 800 nm. Por ejemplo, la fuente de luz puede incluir una fuente de luz de banda ancha que emite luz con longitudes de onda de 200 nm a 900 nm. En otros casos, la fuente de luz incluye una pluralidad de fuentes de luz de banda estrecha que emiten longitudes de onda que varían de 200 nm a 900 nm. Por ejemplo, la fuente de luz puede ser una pluralidad de LED de banda estrecha (1 nm-25 nm) que cada uno emite de forma independiente luz con un intervalo de longitudes de onda entre 200 nm a 900 nm. En algunas realizaciones, la fuente de luz de banda estrecha es una o más lámparas de banda estrecha que emiten luz en el intervalo de 200 nm a 900 nm, tal como una lámpara de cadmio de banda estrecha, una lámpara de cesio, una lámpara de helio, una lámpara de mercurio, una lámpara de mercurio-cadmio, una lámpara de potasio, una lámpara de sodio, una lámpara de neón, una lámpara de zinc o cualquier combinación de las mismas. En otras realizaciones, la fuente de luz de banda estrecha incluye uno o más láseres que emiten luz en el intervalo de 200 nm a 1000 nm, tales como láseres de gas, láseres excímero, láseres de tinte, láseres de vapor de metal, y láser de estado sólido como se describió anteriormente.

Dependiendo del protocolo de ensayo, los sistemas objeto pueden configurarse para irradiar la muestra en intervalos continuos o discretos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los sistemas pueden configurarse para irradiar la muestra continuamente. Cuando la luz incluye dos o más fuentes de luz, la muestra puede irradiarse continuamente por todas las fuentes de luz simultáneamente. En otros casos, la muestra se irradia continuamente con cada fuente de luz secuencialmente. En otras realizaciones, la muestra se puede irradiar en intervalos regulares, tal como irradiar la muestra cada 0,001 microsegundos, cada 0,01 microsegundos, cada 0,1 microsegundos cada 1 microsegundo, cada 10 microsegundos, cada 100 microsegundos, e incluyendo cada 1000 microsegundos. La fuente de luz puede colocarse a una distancia de la muestra que varía dependiendo del tipo de fuente de luz y de las características de la muestra (p. ej., el ancho de la corriente de flujo, tamaños de partículas de interés). Por ejemplo, la fuente de luz puede colocarse a 0,01 mm o más de la muestra, tal como a 0,05 mm o más, tal como a 0,1 mm o más, tal como a 0,5 mm o más, tal como a 1 mm o más, tal como a 2,5 mm o más, tal como a 5 mm o más, tal como a 10 mm o más, tal como a 15 mm o más, tal como a 25 mm o más, e incluyendo a 50 mm o más de la muestra. La fuente de luz también puede colocarse en un ángulo con respecto a la muestra que también varía. Por ejemplo, la fuente de luz puede colocarse en un ángulo con respecto a la muestra que varía de 10° a 90°, tal como de 15° a 85°, tal como de 20° a 80°, tal como de 25° a 75°, e incluyendo de 30° a 60°. En ciertas realizaciones, la fuente de luz se coloca en un ángulo de 90° con respecto a la muestra.

Cada detector también puede incluir uno o más componentes de ajuste óptico. En algunos casos, el ajuste óptico consiste en enfocar la luz recolectada de la muestra (p. ej., luz dispersa, fluorescencia) sobre la superficie del detector o bloquear o separar longitudes de onda de luz. Los componentes de ajuste óptico pueden ser cualquier dispositivo o estructura conveniente que proporcione el cambio deseado en el haz de luz recogido, y puede incluir, pero sin limitarse a, lentes, espejos, estenopos, hendiduras, rejillas, refractores de luz, y cualquier combinación de los mismos. El detector puede incluir uno o más componentes de ajuste óptico según sea necesario, tales como dos o más, tales como tres o más, tales como cuatro o más, e incluyendo cinco o más componentes de ajuste óptico. En determinadas realizaciones, el detector incluye una lente de enfoque. En otras realizaciones, el detector incluye uno o más filtros de paso de banda.

En algunas realizaciones, el detector y el componente de ajuste óptico están en comunicación óptica, pero no están físicamente en contacto. Dependiendo del tamaño del detector, el componente de ajuste óptico puede colocarse a 0,05 mm o más del detector, a 0,1 mm o más, tal como a 0,5 mm o más, tal como a 1 mm o más, tal como a 10 mm o más, tal como a 25 mm o más, tal como a 50 mm o más, tal como a 100 mm o más, tal como a 250 mm o más, incluyendo 500 mm o más. En otras realizaciones, el componente de ajuste óptico está físicamente acoplado al detector, tal como con un adhesivo, moldeado conjuntamente o integrado conjuntamente en una carcasa que tiene el componente de ajuste óptico colocado adyacente al detector. Como tal, el componente de ajuste óptico y el detector pueden integrarse en una sola unidad.

En ciertas realizaciones, los sistemas en cuestión son sistemas de citometría de flujo que emplean las unidades de tapón de dispersión de detector óptico descritas anteriormente para reducir la cantidad de luz incidente de una fuente de luz irradiante de una muestra en una corriente de flujo. Las unidades de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión que tienen barras de cubierta extraíbles de la invención se pueden usar con una variedad de sistemas de citómetro de flujo diferentes. Los sistemas y métodos de citometría de flujo adecuados para analizar muestras incluyen, pero sin limitarse a, los descritos en Ormerod (ed.), *Flow Cytometry: A Practical Approach*, Oxford Univ. Pulse (1997); Jaroszeski y col. (eds.), *Flow Cytometry Protocols, Methods in Molecular Biology* No. 91, Conferencia Humana (1997); *Practical Flow Cytometry*, 3ª ed., Wiley-Liss (1995); Virgo, y col. (2012) *Ann Clin Biochem. Ene*;49(pt 1):17-28; Linden, y col., *Semin Throm Hemost.* octubre de 2004;30(5):502-11; Allison, y col. *J Pathol*, diciembre de 2010; 222(4):335-344; y Herbig, y col. (2007) *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 24(3):203-255. En determinados casos, los sistemas de citometría de flujo de interés incluyen citómetros de flujo BD Biosciences FACSCanto™ y FACSCanto II™, sistemas BD Biosciences FACS Advantage™, BD Biosciences FACS Sort™, BD Biosciences FACSCount™, BD Biosciences FACScan™ y BD Biosciences FACSCalibur™, un clasificador de células BD Biosciences Influx™, un citómetro de flujo BD Biosciences Accuri™ C6; un citómetro de flujo BD Biosciences LSRFortessa™, un citómetro de flujo BD Biosciences LSRFortessa™ X-20, un citómetro de flujo BD Biosciences FACSVerse™, citómetros de flujo BD Biosciences FACS Aria™ III y BD FACS Aria™ Fusion, un citómetro de flujo BD Biosciences FACS Jazz™, o similar.

En ciertas realizaciones, los sistemas en cuestión son sistemas de citómetros de flujo que incorporan uno o más componentes de los citómetros de flujo descritos en las Patentes de EE. UU. n.º 3.960.449; 4.347.935; 4.667.830; 4.704.891; 4.770.992; 5.030.002; 5.040.890; 5.047.321; 5.245.318; 5.317.162; 5.464.581; 5.483.469; 5.602.039; 5.620.842; 5.627.040; 5.643.796; 5.700.692; 6.372.506; 6.809.804; 6.813.017; 6.821.740; 7.129.505; 7.201.875; 7.544.326; 8.140.300; 8.233.146; 8.753.573; 8.975.595; 9.092.034; 9.095.494 y 9.097.640.

Otra técnica anterior relevante comprende los documentos WO2014/144585A1, EP2784478A1, US7092078B2 y US2011/069816A1.

Métodos para medir la luz a partir de una muestra

Los aspectos de la descripción también incluyen métodos para medir la luz emitida desde una muestra (p. ej., en una corriente de flujo en un citómetro de flujo), donde la luz medida es luz que ha pasado a través de una unidad de tapón de dispersión óptica de la invención hasta un detector. Los métodos incluyen, en ciertas realizaciones, irradiar la muestra con una fuente de luz, detectar la luz de la muestra con un detector acoplado a una unidad de tapón de dispersión óptica y medir la luz detectada en una o más longitudes de onda. En algunas realizaciones, la luz detectada es la fluorescencia de la muestra. En otras realizaciones, la luz detectada es luz dispersa desde la muestra, tal como luz dispersa lateralmente o luz dispersada hacia adelante.

En algunas realizaciones, la muestra es una muestra biológica. El término "muestra biológica" se utiliza en su sentido convencional para referirse a un organismo completo, planta, hongos o un subconjunto de tejidos animales, células o partes componentes que puedan encontrarse en ciertos casos en la sangre, el moco, el líquido linfático, el líquido sinovial, el líquido cefalorraquídeo, la saliva, el lavado broncoalveolar, el líquido amniótico, la sangre del cordón amniótico, la orina, el fluido vaginal y el semen. Como tal, una "muestra biológica" se refiere tanto al organismo nativo como al subconjunto de sus tejidos, así como a un homogeneizado, lisado o extracto preparado a partir del organismo o un subconjunto de sus tejidos, que incluyen, pero sin limitarse a, por ejemplo, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, líquido linfático, secciones de la piel, tractos respiratorio, gastrointestinal, cardiovascular y genitourinario, lágrimas, saliva, leche, células sanguíneas, tumores, órganos. Las muestras biológicas pueden ser cualquier tipo de tejido orgánico, incluyendo tanto tejido sano como enfermo (p. ej., canceroso, maligno, necrótico, etc.). En determinadas

realizaciones, la muestra biológica es una muestra líquida, tal como sangre o derivado de la misma, p. ej., plasma, lágrimas, orina, semen, etc., donde en algunos casos la muestra es una muestra de sangre, que incluye sangre completa, tal como sangre obtenida de punción venosa o punción digital (donde la sangre puede o no combinarse con cualquier reactivo antes del ensayo, tales como conservantes, anticoagulantes, etc.).

En determinadas realizaciones, la fuente de la muestra es un “mamífero” o “de la clase Mammalia”, donde estos términos se usan ampliamente para describir organismos que están dentro de la clase Mammalia, incluyendo los órdenes carnívoros (p. ej., perros y gatos), roedores (p. ej., ratones, cobayas y ratas), y primates (p. ej., seres humanos, chimpancés y monos). En algunos casos, los sujetos son seres humanos. Los métodos pueden aplicarse a muestras obtenidas de sujetos humanos de ambos géneros y en cualquier paso de desarrollo (es decir, neonatos, lactantes, juveniles, adolescentes, adultos), donde en determinadas realizaciones el sujeto humano es un juvenil, adolescente o adulto. Si bien la presente invención se puede aplicar a muestras de un sujeto humano, debe entenderse que los métodos también pueden realizarse en muestras de otros sujetos animales (es decir, en “sujetos no humanos”), tales como, pero sin limitarse a, aves, ratones, ratas, perros, gatos, ganado y caballos.

En la práctica de métodos según determinadas realizaciones, una muestra (p. ej., en una corriente de flujo de un citómetro de flujo) se irradia con luz desde una fuente de luz. En algunas realizaciones, la fuente de luz es una fuente de luz de banda ancha, que emite luz con una amplia gama de longitudes de onda, tal como, por ejemplo, que abarca 50 nm o más, tal como 100 nm o más, tal como 150 nm o más, tal como 200 nm o más, tal como 250 nm o más, tal como 300 nm o más, tal como 350 nm o más, tal como 400 nm o más, e incluyendo abarcar 500 nm o más. Por ejemplo, una fuente de luz de banda ancha adecuada emite luz con longitudes de onda de 200 nm a 1500 nm. Otro ejemplo de una fuente de luz de banda ancha adecuada incluye una fuente de luz que emite luz con longitudes de onda de 400 nm a 1000 nm. Cuando los métodos incluyen irradiar con una fuente de luz de banda ancha, los protocolos de fuente de luz de banda ancha de interés pueden incluir, aunque no de forma limitativa, una lámpara de halógeno, lámpara de arco de deuterio, lámpara de arco de xenón, fuente de luz de banda ancha acoplada con fibra estabilizada, un LED de banda ancha con espectro continuo, un diodo emisor superluminiscente, un diodo emisor de luz semiconductor, una fuente de luz blanca LED de amplio espectro, una fuente de luz blanca integrada multiLED, entre otras fuentes de luz de banda ancha, o cualquier combinación de las mismas.

En otras realizaciones, los métodos incluyen irradiar con una fuente de luz de banda estrecha que emite una longitud de onda particular o un intervalo estrecho de longitudes de onda, tal como, por ejemplo, con una fuente de luz que emite luz en un intervalo estrecho de longitudes de onda como un intervalo de 50 nm o menos, tal como 40 nm o menos, tal como 30 nm o menos, tal como 25 nm o menos, tal como 20 nm o menos, tal como 15 nm o menos, tal como 10 nm o menos, tal como 5 nm o menos, tal como 2 nm o menos, e incluyendo fuentes de luz que emiten una longitud de onda específica de luz (es decir, luz monocromática). Cuando los métodos incluyen irradiar con una fuente de luz de banda estrecha, los protocolos de fuente de luz de banda estrecha de interés pueden incluir, aunque no de forma limitativa, un LED de longitud de onda estrecha, un diodo láser o una fuente de luz de banda ancha acoplada a uno o más filtros de paso de banda ópticos, rejillas de difracción, monocromadores o cualquier combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, los métodos incluyen irradiar la muestra con uno o más láseres. Como se explicó anteriormente, el tipo y número de láseres variarán dependiendo de la muestra, así como de la luz deseada recogida y puede ser un láser de gas, tal como un láser de helio-neón, un láser de argón, un láser kriptón, un láser de xenón, un láser de nitrógeno, un láser de CO₂, un láser de CO, un láser excímero de argón-flúor (ArF), un láser excímero de kriptón-flúor (KrF), un láser excímero de cloro de xenón (XeCl), o un láser excímero de xenón-flúor (XeF), o una combinación de los mismos. En otros casos, los métodos incluyen irradiar la corriente de flujo con un láser de tinte, tal como un láser de estilbena, de cumarina o de rodamina. En otros casos más, los métodos incluyen irradiar la corriente de flujo con un láser de metal-vapor, tal como un láser de helio-cadmio (HeCd), un láser de helio-mercurio (HeHg), un láser de helio-selenio (HeSe), un láser de helio-plata (HeAg), un láser de estroncio, un láser de neón-cobre (NeCu), un láser de cobre o un láser de oro, y combinaciones de los mismos. En aún otros casos, los métodos incluyen irradiar la corriente de flujo con un láser de estado sólido, tal como un láser de rubí, un láser Nd:YAG, un láser NCrYAG, un láser Er:YAG, un láser Nd:YLF, un láser Nd:YVO₄, un láser Nd:YCa₄O(BO₃)₃, un láser Nd:YCOB, un láser de zafiro de titanio, un láser tulio YAG, un láser de iterbio YAG, un láser de iterbio₂O₃, o láseres dopados con cerio, y combinaciones de los mismos.

La muestra puede irradiarse con una o más de las fuentes de luz mencionadas anteriormente, tales como dos o más fuentes de luz, tales como tres o más fuentes de luz, tales como cuatro o más fuentes de luz, tales como cinco o más fuentes de luz, e incluyendo diez o más fuentes de luz. La fuente de luz puede incluir cualquier combinación de tipos de fuentes de luz. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los métodos incluyen irradiar la muestra en la corriente de flujo con una matriz de láseres, tal como una matriz que tenga uno o más láseres de gas, uno o más láseres de tinte, y uno o más láseres de estado sólido.

La muestra puede irradiarse con longitudes de onda que varían de 200 nm a 1500 nm, tal como de 250 nm a 1250 nm, tal como de 300 nm a 1000 nm, tal como de 350 nm a 900 nm, e incluyendo de 400 nm a 800 nm. Por ejemplo, cuando la fuente de luz es una fuente de luz de banda ancha, la muestra puede irradiarse con longitudes de onda de 200 nm a 900 nm. En otros casos, donde la fuente de luz incluye una pluralidad de fuentes de luz de banda estrecha, la

muestra puede irradiarse con longitudes de onda específicas en el intervalo de 200 nm a 900 nm. Por ejemplo, la fuente de luz puede ser una pluralidad de LED de banda estrecha (1 nm-25 nm) que cada uno emite de forma independiente luz con un intervalo de longitudes de onda entre 200 nm a 900 nm. En otras realizaciones, la fuente de luz de banda estrecha incluye uno o más láseres (tales como una matriz láser), y la muestra se irradia con longitudes de onda específicas que varían de 200 nm a 700 nm, tal como con una matriz láser que tiene láseres de gas, láseres excímero, láseres de tinte, láseres de vapor de metal, y láser de estado sólido como se describió anteriormente.

Cuando se emplea más de una fuente de luz, la muestra puede irradiarse con las fuentes de luz de forma simultánea o secuencial, o una combinación de las mismas. Por ejemplo, la muestra puede irradiarse simultáneamente con ambas fuentes de luz. En otras realizaciones, la corriente de flujo se irradia secuencialmente con ambas fuentes de luz. Cuando dos fuentes de luz irradian secuencialmente, el tiempo que cada fuente de luz irradia la muestra puede ser independientemente 0,001 microsegundos o más, tal como 0,01 microsegundos o más, tal como 0,1 microsegundos o más, tal como 1 microsegundo o más, tal como 5 microsegundos o más, tal como 10 microsegundos o más, tal como 30 microsegundos o más, e incluyendo 60 microsegundos o más. Por ejemplo, los métodos pueden incluir irradiar la muestra con la fuente de luz (p. ej., láser) durante una duración que varía de 0,001 microsegundos a 100 microsegundos, tal como de 0,01 microsegundos a 75 microsegundos, tal como de 0,1 microsegundos a 50 microsegundos, tal como de 1 microsegundo a 25 microsegundos, e incluyendo de 5 microsegundos a 10 microsegundos. En realizaciones donde la muestra se irradia secuencialmente con dos o más fuentes de luz, la duración de la muestra que se irradia por cada fuente de luz puede ser igual o diferente.

El período de tiempo entre la irradiación por cada fuente de luz también puede variar, según se desee, separado independientemente por un retardo de 0,001 microsegundos o más, tal como 0,01 microsegundos o más, tal como 0,1 microsegundos o más, tal como 1 microsegundo o más, tal como 5 microsegundos o más, tal como de 10 microsegundos o más, tal como de 15 microsegundos o más, tal como de 30 microsegundos o más, e incluyendo de 60 microsegundos o más. Por ejemplo, el período de tiempo entre la irradiación por cada fuente de luz puede variar de 0,001 microsegundos a 60 microsegundos, tal como de 0,01 microsegundos a 50 microsegundos, tal como de 0,1 microsegundos a 35 microsegundos, tal como de 1 microsegundo a 25 microsegundos, e incluyendo de 5 microsegundos a 10 microsegundos. En determinadas realizaciones, el período de tiempo entre la irradiación de cada fuente de luz es de 10 microsegundos. En realizaciones donde la muestra se irradia secuencialmente por más de dos (es decir, tres o más) fuentes de luz, el retardo entre la irradiación por cada fuente de luz puede ser igual o diferente.

La muestra puede irradiarse continuamente o en intervalos discretos. En algunos casos, los métodos incluyen irradiar la muestra en la muestra con la fuente de luz de forma continua. En otros casos, la muestra se irradia con la fuente de luz en intervalos discretos, tal como irradiar cada 0,001 milisegundos, cada 0,01 milisegundos, cada 0,1 milisegundos, cada 1 milisegundo, cada 10 milisegundos, cada 100 milisegundos, e incluyendo cada 1000 milisegundos, o algún otro intervalo.

Dependiendo de la fuente de luz, la muestra puede irradiarse desde una distancia que varía tal como 0,01 mm o más, tal como 0,05 mm o más, tal como 0,1 mm o más, tal como 0,5 mm o más, tal como 1 mm o más, tal como 2,5 mm o más, tal como 5 mm o más, tal como 10 mm o más, tal como 15 mm o más, tal como 25 mm o más, e incluyendo 50 mm o más. Además, el ángulo de irradiación también puede variar, variando de 10° a 90°, tal como de 15° a 85°, tal como de 20° a 80°, tal como de 25° a 75°, e incluyendo de 30° a 60°, por ejemplo, en un ángulo de 90°.

Como se analizó anteriormente, en realizaciones, la luz de la muestra (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia adelante, luz dispersa lateralmente, etc.) se hace pasar a través de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico como se describe en el presente documento y se mide mediante uno o más detectores. En la práctica de los métodos objeto, la luz se mide en una o más longitudes de onda, tal como en 5 o más longitudes de onda diferentes, tal como en 10 o más longitudes de onda diferentes, tal como en 25 o más longitudes de onda diferentes, tal como en 50 o más longitudes de onda diferentes, tal como en 100 o más longitudes de onda diferentes, tal como en 200 o más longitudes de onda diferentes, tal como en 300 o más longitudes de onda diferentes, e incluyendo medir la luz recolectada en 400 o más longitudes de onda diferentes.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen medir la luz recolectada en un intervalo de longitudes de onda (p. ej., 200 nm-1000 nm). Por ejemplo, los métodos pueden incluir recoger espectros de luz en uno o más de los intervalos de longitud de onda de 200 nm-1000 nm. Aún en otras realizaciones, los métodos incluyen medir la luz recolectada en una o más longitudes de onda específicas. Por ejemplo, la luz recolectada puede medirse a uno o más de 450 nm, 518 nm, 519 nm, 561 nm, 578 nm, 605 nm, 607 nm, 625 nm, 650 nm, 660 nm, 667 nm, 670 nm, 668 nm, 695 nm, 710 nm, 723 nm, 780 nm, 785 nm, 647 nm, 617 nm, y cualquier combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, los métodos que incluyen medir longitudes de onda de luz que corresponden a la longitud de onda máxima de fluorescencia de determinados fluoróforos.

Al utilizar los tapones de dispersión de la invención, donde la detección de la dispersión de una partícula es mayor que la longitud de onda del láser, la dispersión en la dirección hacia delante alcanza un máximo en la dirección del láser. Para una partícula mucho más pequeña que la longitud de onda del láser, la dispersión ya no tiene un máximo y disminuye mucho. En el caso de la partícula pequeña, es deseable bloquear la mayor cantidad posible del láser

incidente para poder ver la firma de dispersión tenue de la partícula pequeña. Debido a que la dispersión no alcanza su punto máximo en la dirección hacia delante, es posible utilizar una barra de dispersión gruesa, eliminando la luz no deseada y dejando pasar suficiente luz dispersa para detectar la partícula.

5 La luz recolectada puede medirse continuamente o en intervalos discretos. En algunos casos, los métodos incluyen tomar mediciones de la luz de forma continua. En otros casos, la luz se mide en intervalos discretos, tal como medir la luz cada 0,001 milisegundos, cada 0,01 milisegundos, cada 0,1 milisegundos, cada 1 milisegundo, cada 10 milisegundos, cada 100 milisegundos, e incluyendo cada 1000 milisegundos, o algún otro intervalo.

10 Las mediciones de la luz recolectada pueden realizarse una o más veces durante los métodos objeto, tales 2 o más veces, tal como 3 o más veces, tal como 5 o más veces, e incluyendo 10 o más veces. En determinadas realizaciones, la luz se mide dos o más veces, promediando los datos en determinados casos.

15 Las mediciones de luz pueden tomarse con cualquier protocolo conveniente como se ha descrito anteriormente, incluyendo, aunque no de forma limitativa, sensores ópticos o fotodetectores, tal como sensores de píxeles activos (APS), fotodiodo de avalancha, fotodiodos de cuadrante, sensores de imagen, dispositivos de carga acoplada (CCD), dispositivos de carga acoplada intensificada (ICCD), diodos emisores de luz, contadores de fotones, bolómetros, detectores piroeléctricos, fotorresistores, células fotovoltaicas, fotodiodos, tubos fotomultiplicadores, fototransistores, fotoconductores o fotodiodos de puntos cuánticos y combinaciones de los mismos, entre otros fotodetectores. En
20 determinadas realizaciones, la luz de la muestra (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateral, etc.) se mide con un dispositivo de carga acoplada (CCD), dispositivos de carga acoplada de semiconductores (CCD), sensores de píxeles activos (APS), sensores de imagen complementarios de semiconductores de óxido metálico (CMOS), o sensores de imagen de semiconductores de óxido metálico de tipo N (NMOS). En ciertas realizaciones, la luz se mide con un dispositivo de carga acoplada (CCD). Cuando la luz transmitida se mide con un CCD, el área
25 superficial de detección activa del CCD puede variar, tal como desde 0,01 cm² a 10 cm², tal como desde 0,05 cm² a 9 cm², tal como desde 0,1 cm² a 8 cm², tal como desde 0,5 cm² a 7 cm², e incluyendo desde 1 cm² a 5 cm².

30 En algunas realizaciones, los métodos incluyen ajustar la luz antes de la medición con el detector. Por ejemplo, la luz recolectada puede pasar a través de una o más lentes, espejos, estenopos, hendiduras, rejillas, refractores de luz adicionales, y cualquier combinación de los mismos. En algunos casos, la luz recolectada se pasa a través de una o más lentes de enfoque, para reducir el perfil de la luz dirigida sobre la superficie activa del detector. En algunos casos, la luz de la muestra se pasa a través de una o más lentes de reducción de tamaño, tal como para aumentar el perfil de la luz dirigida sobre la superficie activa del detector.

35 En aún otros casos, los métodos incluyen además colimar la luz. Por ejemplo, la luz propagada a través de los sistemas de recolección de luz alineados ópticamente en cuestión puede colimarse además pasando la luz a través de una o más lentes de colimación o con espejos de colimación o una combinación de estos. En otros casos más, los métodos incluyen además hacer pasar la luz propagada a través de los sistemas de recolección de luz alineados ópticamente en cuestión a través de uno o más separadores de longitud de onda. La separación de longitud de onda, según ciertas
40 realizaciones, puede incluir hacer pasar o bloquear selectivamente longitudes de onda específicas o intervalos de longitud de onda de la luz policromática. Para separar longitudes de onda de luz, la luz puede pasar a través de cualquier protocolo de separación de longitud de onda conveniente, que incluye, pero sin limitarse a, vidrio coloreado, filtros de paso de banda, filtros de interferencia, espejos dielectricos, rejillas de difracción, monocromadores y combinaciones de los mismos, entre otros protocolos de separación de longitud de onda.

45 En ciertas realizaciones, la luz detectada (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia adelante, luz dispersa lateralmente, etc.) puede pasar además a través de fibra óptica. Como se explicó anteriormente, los protocolos de fibra óptica adecuados que propagan luz a la superficie activa del detector incluyen, aunque no de manera limitativa, protocolos de fibra óptica de citómetro de flujo, tales como los descritos en la patente de Estados Unidos n.º 6.809.804.

50 En algunas realizaciones, los métodos incluyen fijar una barra de cubierta al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico en función de las características de la muestra, tales como el tamaño de las partículas (p. ej., células) en la muestra o la magnitud de la fluorescencia de las partículas en la muestra. En algunos casos, el tamaño de la barra de cubierta fijada depende del tamaño de las partículas de la muestra. En otros casos, la forma de la barra de cubierta depende del tamaño de las partículas de la muestra.

55 En algunas realizaciones, donde las partículas en la muestra tienen de 4 a 10 veces el tamaño de la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la muestra, los métodos incluyen fijar una barra de cubierta que tiene un ancho que varía de 1 mm a 5 mm, tal como de 1,5 mm a 4 mm e incluyendo de 2 mm a 3 mm. En estas realizaciones, la barra de cubierta puede ser rectangular, curvilínea o poligonal asimétrica. Por ejemplo, cuando las partículas en la muestra tienen de 4 a 10 veces el tamaño de la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la muestra, los métodos pueden incluir fijar a la unidad de tapón de dispersión de detector óptico una barra de cubierta rectangular que tiene un ancho de 2 mm.

65 En otras realizaciones, cuando las partículas en la muestra tienen menos de 4 veces el tamaño de la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la muestra, los métodos pueden incluir fijar a la unidad de tapón de dispersión de

5 detector óptico una barra de cubierta que tiene un ancho que varía de 2 mm a 10 mm, tal como de 2,5 mm a 9 mm, tal como de 3 mm a 8 mm e incluyendo de 2,5 mm a 6 mm, tal como un ancho que es de 2,5 mm, 3 mm, 3,5 mm, 4 mm, 4,5 mm, 5 mm, 5,5 mm o 6 mm. En estas realizaciones, la barra de cubierta puede ser rectangular, curvilínea o poligonal asimétrica. Por ejemplo, cuando las partículas en la muestra tienen menos de 4 veces el tamaño de la longitud de onda de la luz utilizada para irradiar la muestra, los métodos pueden incluir fijar a la unidad de tapón de dispersión de detector óptico una barra de cubierta rectangular que tiene un ancho que oscila entre 2 mm - 6 mm.

10 En algunas realizaciones, los métodos incluyen: 1) fijar una primera barra de cubierta al extremo distal de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico; 2) detectar y medir luz (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateralmente, etc.) de una muestra; 3) retirar la primera barra de cubierta; y 4) fijar una segunda barra de cubierta al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico. En estas realizaciones, la primera barra de cubierta y la segunda barra de cubierta pueden variar, como se describió anteriormente. En algunos casos, la primera barra de cubierta y la segunda barra de cubierta tienen la misma forma, pero tienen diferentes tamaños (p. ej., ancho). En otros casos, la primera barra de cubierta y la segunda barra de cubierta tienen el mismo tamaño, pero tienen formas diferentes. En otros casos más, la primera barra de cubierta y la segunda barra de cubierta difieren tanto en forma como en tamaño.

20 En un ejemplo, los métodos incluyen: 1) fijar una primera barra de cubierta rectangular al extremo distal de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico; 2) detectar y medir la luz (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateralmente, etc.) de la muestra; 3) retirar la primera barra de cubierta rectangular; y 4) fijar una segunda barra de cubierta rectangular que tiene un ancho diferente al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

25 En otro ejemplo, los métodos incluyen: 1) fijar una barra de cubierta rectangular al extremo distal de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico; 2) detectar y medir la luz (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateralmente, etc.) de la muestra; 3) retirar la barra de cubierta rectangular; y 4) fijar una barra de cubierta curvilínea al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

30 En otro ejemplo, los métodos incluyen: 1) fijar una barra de cubierta curvilínea al extremo distal de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico; 2) detectar y medir la luz (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateralmente, etc.) de la muestra; 3) retirar la barra de cubierta curvilínea; y 4) fijar una barra de cubierta rectangular al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

35 En otro ejemplo, los métodos incluyen: 1) fijar una barra de cubierta rectangular al extremo distal de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico; 2) detectar y medir la luz (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateralmente, etc.) de la muestra; 3) retirar la barra de cubierta rectangular; y 4) fijar una barra de cubierta poligonal asimétrica al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

40 En otro ejemplo, los métodos incluyen: 1) fijar una barra de cubierta poligonal asimétrica al extremo distal de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico; 2) detectar y medir la luz (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateralmente, etc.) de la muestra; 3) retirar la barra de cubierta poligonal asimétrica; y 4) fijar una barra de cubierta rectangular al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

45 En otro ejemplo, los métodos incluyen: 1) fijar una barra de cubierta curvilínea al extremo distal de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico; 2) detectar y medir la luz (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateralmente, etc.) de la muestra; 3) retirar la barra de cubierta curvilínea; y 4) fijar una barra de cubierta poligonal asimétrica al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

50 En otro ejemplo, los métodos incluyen: 1) fijar una barra de cubierta poligonal asimétrica al extremo distal de una unidad de tapón de dispersión de detector óptico; 2) detectar y medir la luz (p. ej., fluorescencia, luz dispersa hacia delante, luz dispersa lateralmente, etc.) de la muestra; 3) retirar la barra de cubierta poligonal asimétrica; y 4) fijar una barra de cubierta curvilínea al extremo distal de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico.

55 Al practicar los métodos en cuestión según ciertas realizaciones, la primera barra de cubierta se puede retirar y reemplazar con la segunda barra de cubierta para reducir la relación señal-ruido de la señal del detector que se mide durante la irradiación de la muestra. En estas realizaciones, los métodos incluyen supervisar la intensidad de la señal del detector durante la irradiación de la muestra para evaluar la relación señal-ruido de la señal del detector. En algunos casos, la supervisión incluye la recopilación de datos en tiempo real del detector o la evaluación de la señal del detector a intervalos regulares, tal como cada 0,001 milisegundos, cada 0,01 milisegundos, cada 0,1 milisegundos, cada 1 milisegundo, cada 5 milisegundos, cada 10 milisegundos, cada 100 milisegundos, incluyendo cada 1000 milisegundos o algún otro intervalo.

65 Cuando la relación señal-ruido evaluada de la señal del detector indica que una barra de cubierta particular proporciona una relación señal-ruido que es inferior a la óptima, los métodos incluyen retirar la primera barra de cubierta y fijar una segunda barra de cubierta a la unidad de tapón de dispersión de detector óptico y posteriormente supervisar la intensidad de la señal. Dependiendo del tipo de luz de la muestra que se está detectando (p. ej., fluorescencia, luz

dispersa hacia adelante, luz dispersa lateralmente, etc.) y la reducción deseada en la relación señal-ruido de la señal del detector, la primera barra de cubierta puede ser reemplazada por una segunda barra de cubierta que tenga una forma diferente, un tamaño diferente o una combinación de estos como se señaló anteriormente.

5 Kits

Los aspectos de la invención incluyen además kits, donde los kits incluyen uno o más unidades de tapón de dispersión de detector óptico y barras de cubierta como se describe en el presente documento. En algunos casos, los kits pueden incluir un único tapón de dispersión de detector óptico y dos o más, incluyendo tres o más, cuatro o más, cinco o más, etc., barras de cubierta, que pueden acoplarse con y retirarse del tapón de dispersión de detector óptico como se ha descrito anteriormente. En algunas realizaciones, la pluralidad de barras de cubierta puede tener dimensiones iguales o diferentes, p. ej., las dos o más barras de dispersión pueden diferir entre sí en términos de ancho. En otras realizaciones, las barras de cubierta pueden tener diferentes formas, tales como formas poligonales asimétricas, rectangulares, curvilíneas o irregulares.

Los kits según determinadas realizaciones incluyen dos o más tapones de dispersión de detector óptico que están configurados para acoplarse a dos tipos diferentes de detectores (p. ej., detectores de fluorescencia, detectores de dispersión lateral, detectores de dispersión frontal, etc.). En algunos casos, los alojamientos de tapón de dispersión de detector óptico tienen diferentes dimensiones. En otros casos, el tapón de dispersión de detector óptico puede incluir diferentes tipos de sujetadores para acoplarse a un detector. Por ejemplo, los kits pueden incluir un primer tapón de dispersión de detector óptico que incluye una o más ranuras, muescas o protuberancias para acoplarse a un detector y un segundo tapón de dispersión de detector óptico que incluye una rosca de tornillo configurada para enroscarse con un detector. En otros casos más, los tapones de dispersión de detector óptico pueden incluir diferentes tipos de alineadores o sujetadores para acoplarse con una barra de cubierta. Por ejemplo, los kits pueden incluir un primer tapón de dispersión de detector óptico que incluye imanes para alinear y acoplarse con la barra de cubierta y un segundo tapón de dispersión de detector óptico que incluye soportes para alinear y acoplarse con la barra de cubierta.

Donde se desee, los kits pueden incluir uno o más componentes de ensayo (p. ej., reactivos marcados, tampones, etc., tal como se ha descrito anteriormente). En algunos casos, los kits pueden incluir, además, un dispositivo de recogida de muestras, p. ej., una lanceta o aguja configurada para pinchar la piel para obtener una muestra de sangre completa, una pipeta, etc., según se desee.

Los diversos componentes de ensayo de los kits pueden encontrarse en recipientes separados, o algunos o todos ellos pueden combinarse previamente. Por ejemplo, en algunos casos, uno o más componentes del kit, p. ej., uno o más tapones de dispersión de detector óptico y/o barras de cubierta, se encuentran en una bolsa sellada, p. ej., una bolsa o sobre de aluminio estéril.

Además de los componentes anteriores, los kits objeto pueden incluir, además, en determinadas realizaciones, instrucciones para practicar los métodos objeto. Las instrucciones pueden incluir direcciones y parámetros para cada barra de dispersión según su forma y tamaño. En determinadas realizaciones, las instrucciones incluyen indicaciones para elegir una forma particular de barra de cubierta en función de las características de la muestra (p. ej., tipos de partículas, tamaños, etc.), así como de las propiedades de la fuente de luz irradiante (p. ej., longitud de onda de la luz, perfil del haz, tamaño del punto de irradiación). En otras realizaciones, las instrucciones incluyen instrucciones para elegir un tamaño particular de barra de cubierta en función de las características de la muestra (p. ej., tipos de partículas, tamaños, etc.), así como de las propiedades de la fuente de luz irradiante (p. ej., longitud de onda de la luz, perfil del haz, tamaño del punto de irradiación).

Las instrucciones en los kits objeto pueden proporcionarse en una variedad de formas, una o más de las cuales pueden encontrarse en el kit. Una forma en la que estas instrucciones pueden presentarse es como información impresa sobre un medio o sustrato adecuado, p. ej., una pieza o piezas de papel sobre la que se imprima la información, en la envoltura del kit, en un prospecto, y similares. Otra forma más de estas instrucciones es un medio legible por ordenador, p. ej., un disquete, un disco compacto (CD), una unidad flash portátil, y similares, en el que se ha grabado la información. Otra forma más de estas instrucciones que pueden estar presentes es una dirección de sitio web que pueda utilizarse a través de internet para acceder a la información en un sitio eliminado.

55 Utilidad

La unidad de tapón de dispersión de detector óptico en cuestión encuentra uso en una variedad de aplicaciones. En ciertas realizaciones, la unidad de tapón de dispersión de detector óptico encuentra uso para mejorar las mediciones de luz de una muestra (p. ej., fluorescencia o luz dispersa de una muestra en una corriente de flujo de un citómetro de flujo). Las realizaciones de la presente descripción encuentran uso donde se desee mejorar la efectividad de las mediciones de emisión y luz dispersa en citometría de flujo, tales como en investigación y pruebas de laboratorio de alto rendimiento. La presente descripción también encuentra uso donde sea conveniente proporcionar un citómetro de flujo con precisión mejorada de clasificación celular, recogida de partículas mejorada, consumo de energía reducido, eficiencia de carga de partículas, carga de partículas más precisa, y deflexión de partículas mejorada durante la clasificación celular.

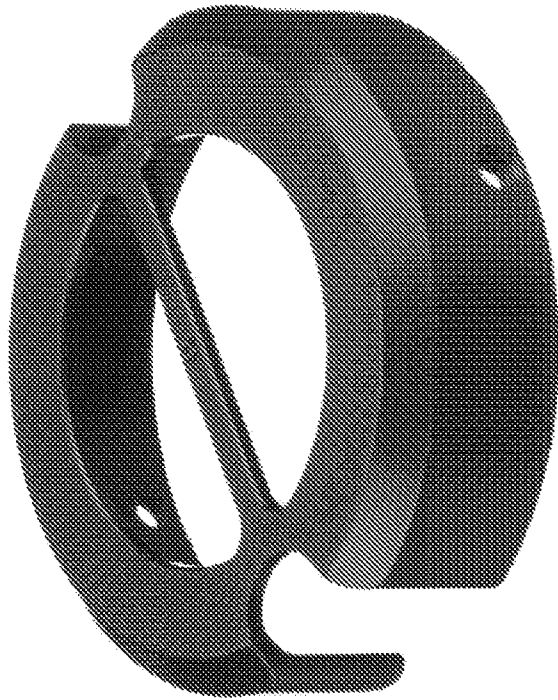
5 La presente descripción encuentra también uso en aplicaciones en donde pueden desearse células preparadas a partir de una muestra biológica para investigación, pruebas de laboratorio o para su uso en terapia. En algunas realizaciones, los métodos y dispositivos objeto pueden facilitar la obtención de células individuales preparadas a partir de una muestra biológica fluídica o tisular diana. Por ejemplo, los métodos y sistemas en cuestión facilitan la obtención de células a partir de muestras de fluidos o tejidos para su uso como muestra de investigación o diagnóstico para enfermedades tales como el cáncer. Asimismo, los métodos y sistemas en cuestión facilitan la obtención de células a partir de muestras fluídicas o tisulares para su uso en terapia. Los métodos y dispositivos de la presente descripción permiten separar y recoger células de una muestra biológica (por ejemplo, órgano, tejido, fragmento de tejido, fluido)

10 con mayor eficiencia y bajo coste en comparación con los sistemas de citometría de flujo tradicionales.

REIVINDICACIONES

1. Una unidad (201a, 201b, 301a, 301b) de tapón de dispersión de detector óptico, comprendiendo la unidad:
 - 5 un tapón (400, 500) de dispersión de detector óptico que comprende un alojamiento (401, 501) que tiene un extremo proximal y un extremo distal; un orificio (402, 502) en el extremo distal del alojamiento (401);
 - 10 una barra (403, 503) de dispersión fijada al alojamiento (401, 501) del tapón (400, 500) de dispersión de detector óptico y que se extiende a través del orificio (402, 502); y la unidad comprende además una primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta que está configurada para acoplarse reversiblemente con la barra (403, 503) de dispersión, en donde la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta tiene un ancho que es igual o mayor que la barra (403, 503) de dispersión.
- 15 2. La unidad de tapón de dispersión de detector óptico según la reivindicación 1, en donde el alojamiento (401, 501) comprende un alineador (405a, 405b, 605a, 605b) que coloca la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta para que sea paralela a la barra (403, 503) de dispersión.
- 20 3. La unidad de tapón de dispersión de detector óptico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el alojamiento (401, 501) comprende un sujetador para inmovilizar la primera barra de cubierta a la barra (403, 503) de dispersión.
- 25 4. La unidad de tapón de dispersión de detector óptico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la barra (403, 503) de dispersión tiene un ancho de 0,1 mm a 1,5 mm.
5. La unidad de tapón de dispersión de detector óptico según la reivindicación 4, en donde la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta tiene un ancho de 2 mm a 6 mm.
- 30 6. La unidad de tapón de dispersión de detector óptico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta tiene una forma seleccionada del grupo que consiste en rectangular curvilínea y poligonal asimétrica.
- 35 7. La unidad de tapón de dispersión de detector óptico según la reivindicación 6, en donde la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta es poligonal asimétrica y tiene un ancho en un primer extremo de 2 mm y un ancho en un segundo extremo de 4 a 5 mm.
- 40 8. La unidad de tapón de dispersión de detector óptico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta comprende un acero magnético recubierto de óxido.
9. Un kit que comprende:
 - 45 una unidad de tapón de dispersión de detector óptico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8; y
 - 50 al menos una segunda barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta que está configurada para acoplarse reversiblemente con la barra (403, 503) de dispersión.
10. Un método que comprende: fijar la primera barra de cubierta de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico al extremo distal del alojamiento del tapón de dispersión de detector óptico según el kit de la reivindicación 9.
- 55 11. El método según la reivindicación 10, en donde el método comprende, además:
 - 60 retirar la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta y fijar la segunda barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta al extremo distal del tapón (400, 500) de dispersión de detector óptico.
- 65 12. Un sistema que comprende:
 - un detector (202a, 202b, 302a, 302b); y
 - una unidad de tapón de dispersión de detector óptico según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

13. Un método que comprende:
- 5 fijar el tapón de dispersión de detector óptico de la unidad de tapón de dispersión de detector óptico según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 a un detector,
irradiar una muestra que comprende células con una fuente de luz;
detectar la luz dispersada por la muestra con el detector (202a, 202b, 302a, 302b); y
medir la luz detectada en una o más longitudes de onda.
- 10 14. El método según la reivindicación 13, en donde el ancho de la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta es mayor que 2 mm cuando las células de la muestra tienen un tamaño inferior a 4 veces la longitud de onda de la fuente de luz.
- 15 15. El método según la reivindicación 13, en donde el ancho de la primera barra (203a, 203b, 303a, 303b, 406, 506a, 506b, 506c, 506d, 506e, 506f, 506g) de cubierta es 2 mm o menos cuando las células de la muestra tienen un tamaño que es 4 veces la longitud de onda de la fuente de luz o más.



(Técnica anterior)

Figura 1

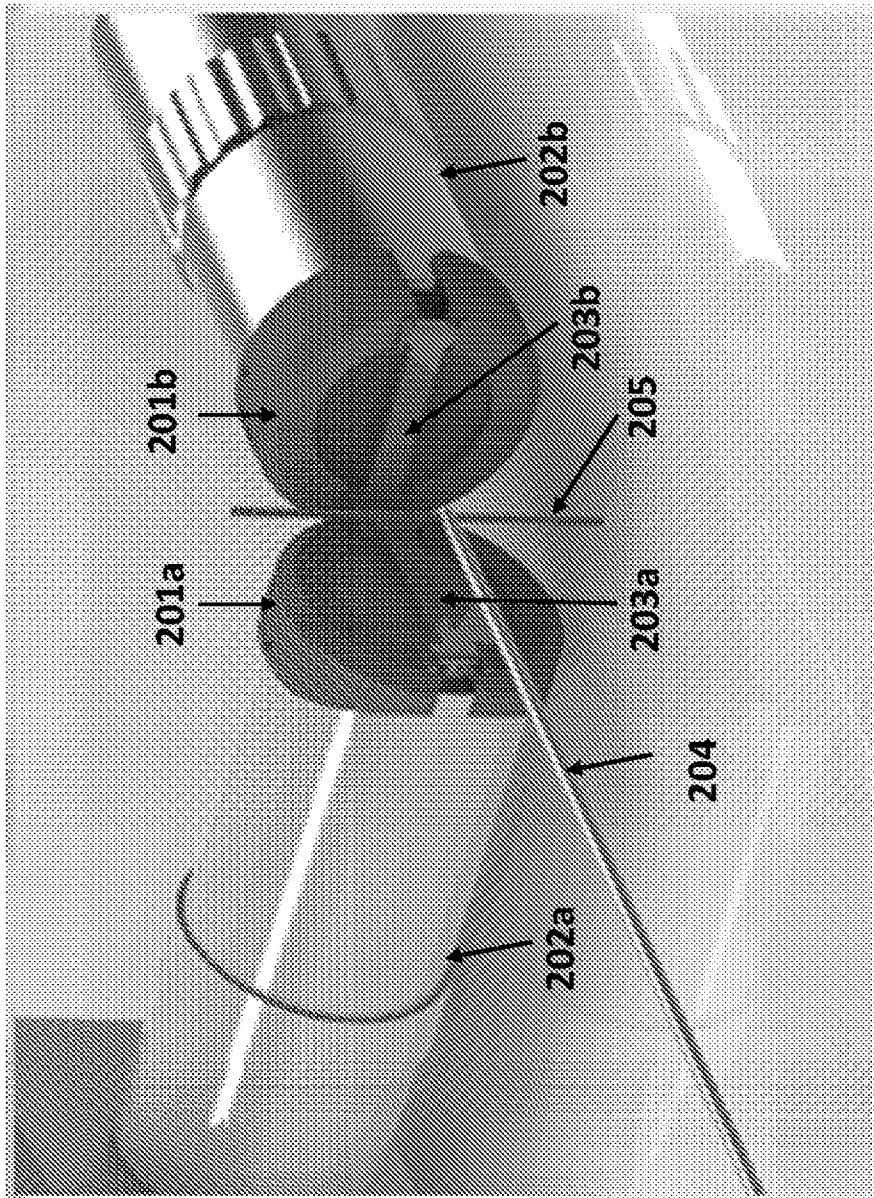


Figura 2

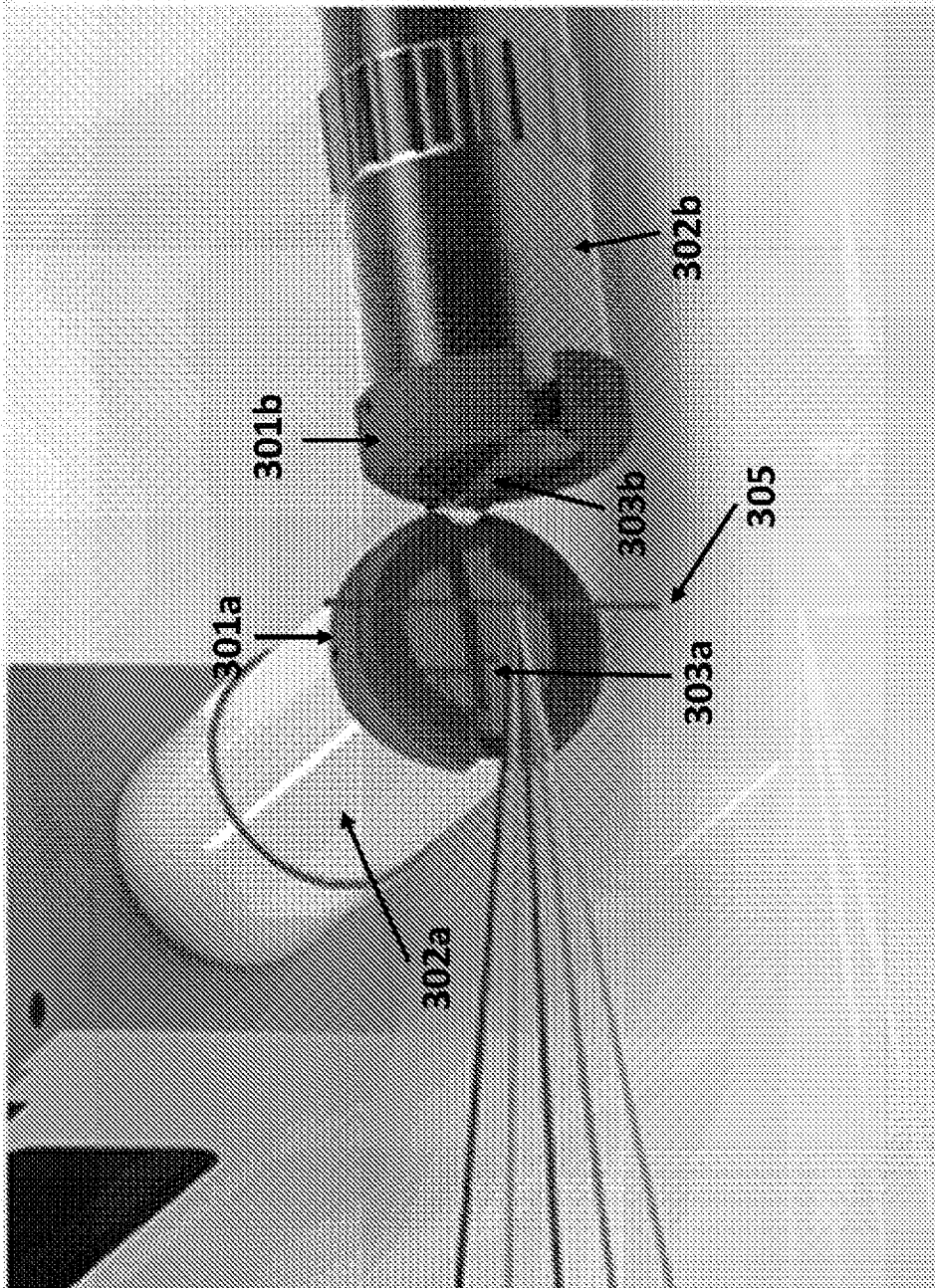


Figura 3

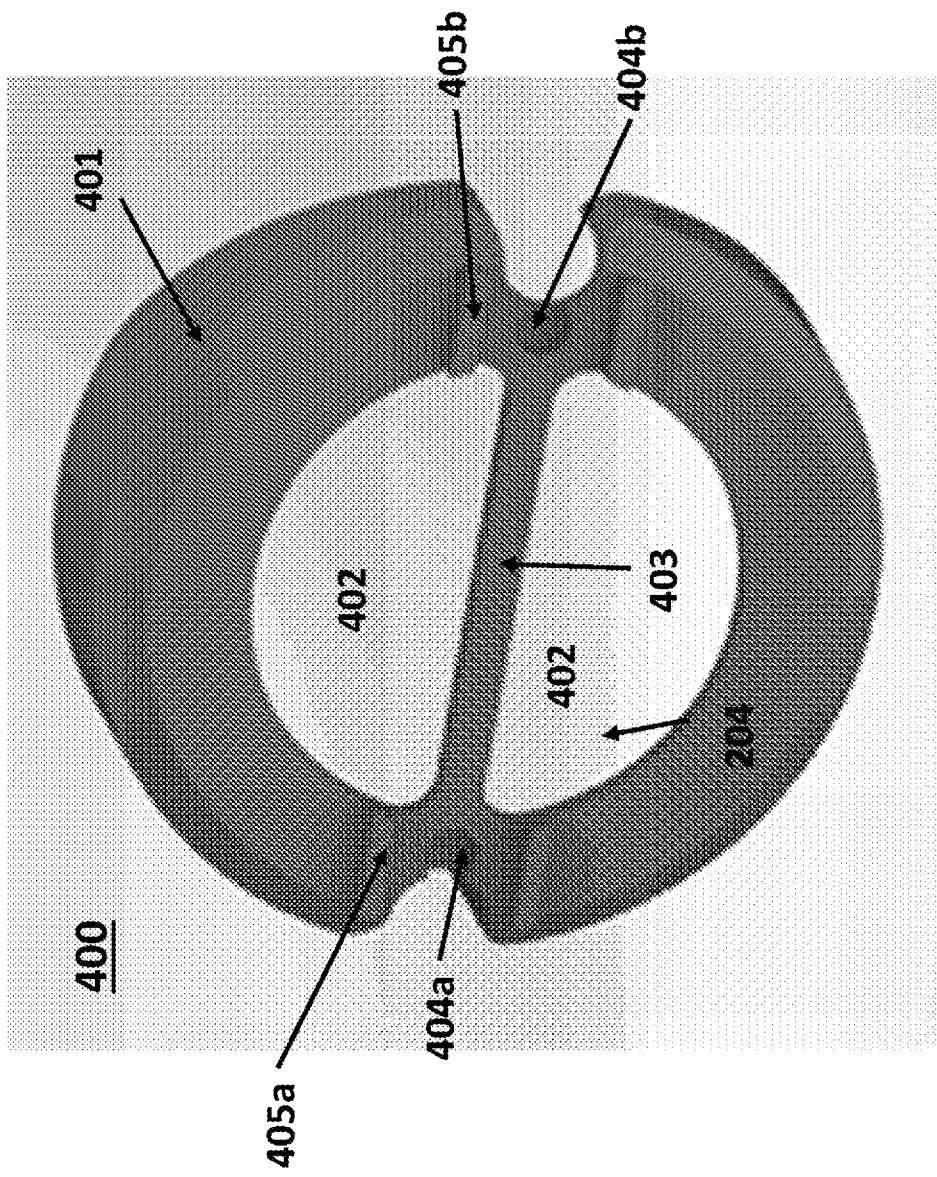


Figura 4A

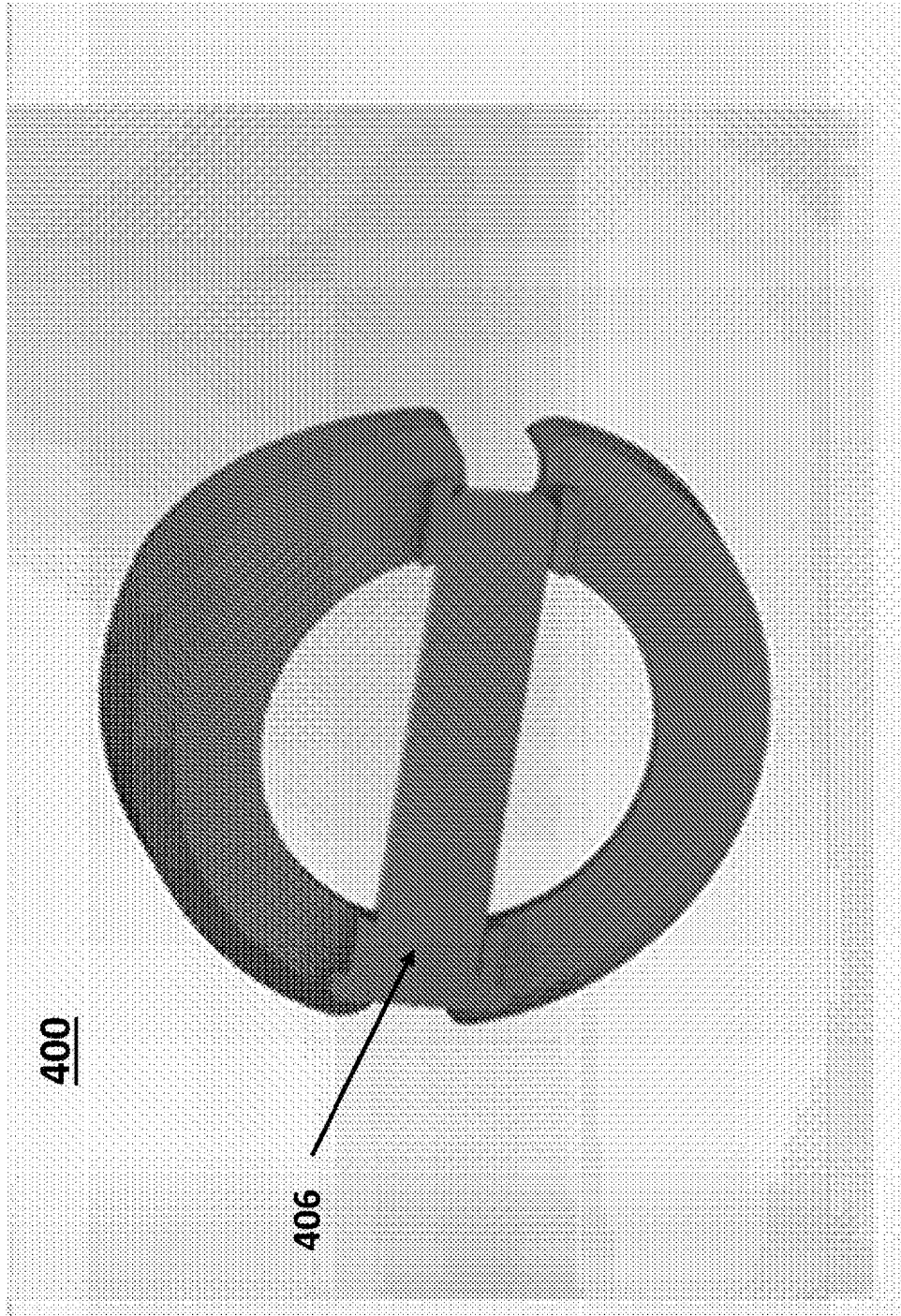


Figura 4B

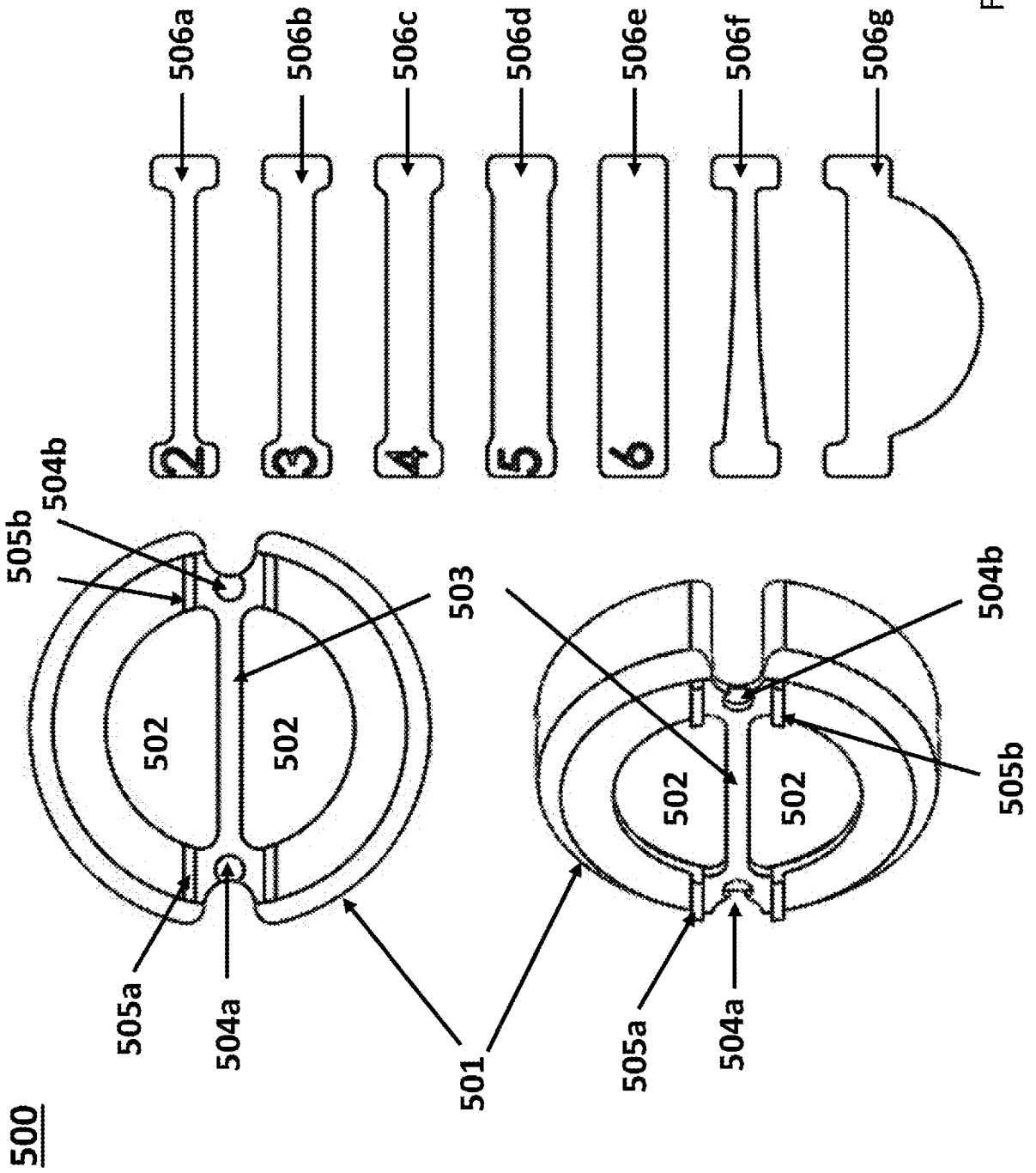


Figura 5

600

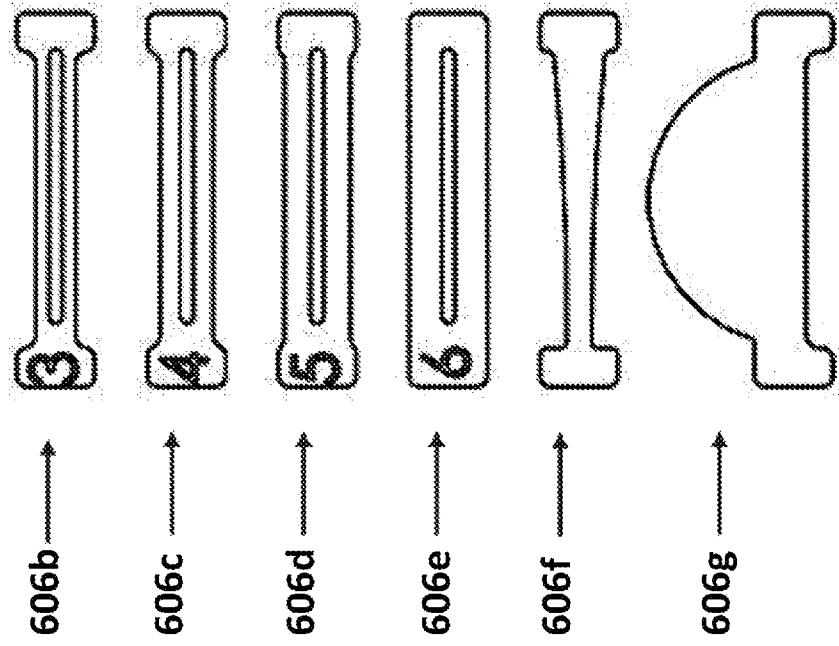
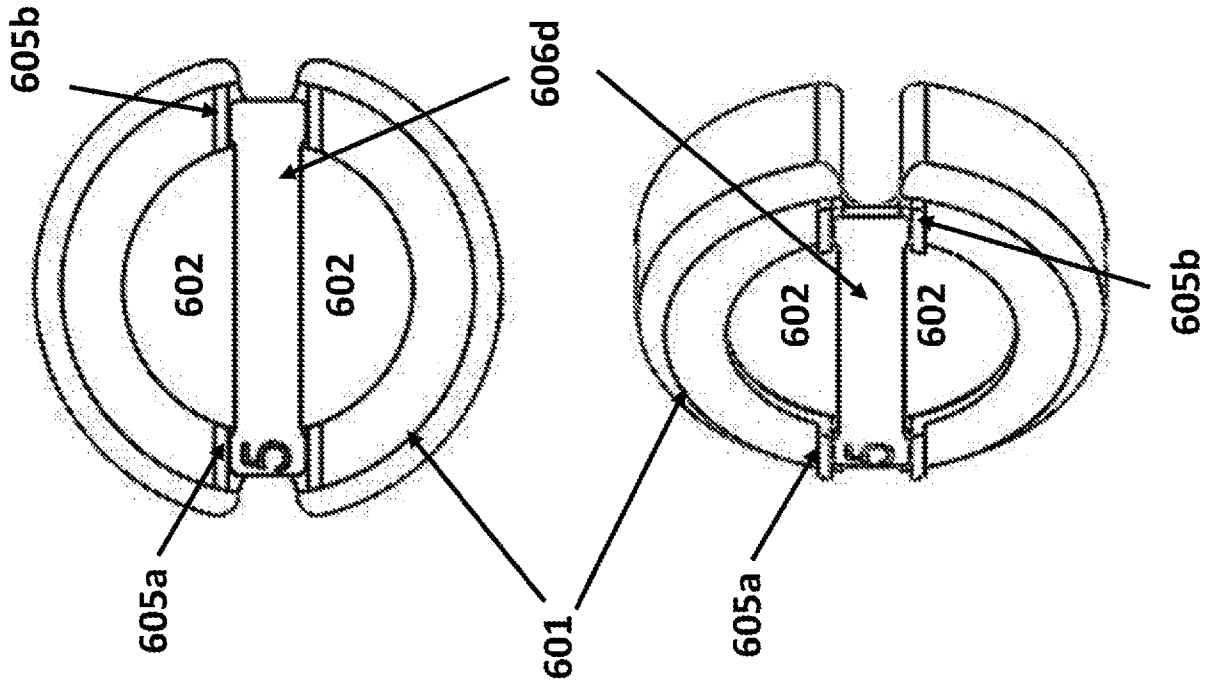


Figura 6