

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 835 181**

51 Int. Cl.:

G01N 1/14 (2006.01)

B01L 3/02 (2006.01)

G01N 15/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2009 PCT/US2009/002564**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.11.2010 WO10126459**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2009 E 09844122 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2020 EP 2425226**

54 Título: **Instrumento de pipeta**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.06.2021

73 Titular/es:
EL SPECTRA, LLC (100.0%)
P.O. Box 7438
Ketchum, ID 83340, US

72 Inventor/es:
AYLIFFE, HAROLD, E.;
KING, CURTIS, S. y
MCGUINNIS, MICHAEL, E.

74 Agente/Representante:
LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 835 181 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

Instrumento de pipeta

5 Campo técnico: La invención se refiere a dispositivos que se pueden utilizar de manera repetitiva para extraer un volumen preciso de fluido de un recipiente de fluido a granel.

10 Antecedentes: Una pipeta es, sin dudar, una de las herramientas de mano más comúnmente utilizada en un entorno de laboratorio químico húmedo. Típicamente, una pipeta se utiliza para extraer una o más submuestras de un recipiente de fluido a granel. (Esta descripción, generalmente, hace referencia específica a una punta de pipeta, en un intento de distinguir una punta desmontable sobre el instrumento de pipeta mismo). Las pipetas están disponibles comercialmente en varias configuraciones que se pueden utilizar de manera repetitiva para extraer y dispensar cantidades de fluidos medidas de manera precisa. Las pipetas disponibles comercialmente incluyen tanto modelos de mano como modelos de mesa que se pueden controlar de forma variada, automatizada o robóticamente.

15 Patentes de Estados Unidos recientes describen varios dispositivos de pipeta que incluyen: 7,448,287 de Daniel et al.; 7,438,861 de Hochstrasser et al.; 7,434,484 de Belgardt; 7,416,704 de Scordato et al.; 7,182,915 de Bullen et al.; 6,997,062 de Cronenberg; y 6,582,664 de Bevirt et al.. Todos los documentos mencionados anteriormente se incorporan en su totalidad aquí como referencia por sus descripciones de tecnología pertinente y diversas disposiciones de pipeta.

20 Determinados dispositivos de detección que se pueden utilizar en aspectos seleccionados de la invención instantánea se describen en las solicitudes conjuntas de patente internacional con número de serie PCT/US 09/02172 (WO2009126257A1), presentada el 7 de abril de 2009, titulada "METHOD FOR MANUFACTURING A MICROFLUIDIC SENSOR", y número de serie PCT/US 08/1 1205 (WO2009045343A1), presentada el 26 de septiembre de 2008, titulada "INSTRUMENTED PIPETTE TIP". Detalles de la construcción de determinados dispositivos pertinentes estructurados para detectar fenómenos de cambios de Stokes se describen en las solicitudes conjuntas de patente internacional con número de serie PCT/US 08/13003 (WO2009070246A1), titulada "FLUORESCENCE-BASED PIPETTE INSTRUMENT", y presentada el 21 de noviembre de 2008, la cual reivindica propiedad a la solicitud de patente provisional de Estados Unidos con número de serie 61/004,630, presentada el 27 de noviembre de 2007, con título "Fluorescence-based pipette instrument". Todos los documentos mencionados anteriormente se incorporan aquí en su totalidad como referencia por sus descripciones de tecnología pertinente.

35 La publicación internacional WO2009/045343 describe un instrumento de pipeta de mano, instrumento de pipeta que comprende:
un cuerpo que lleva:

una fuente de succión; una interfaz de punta de pipeta configurada para sostener una punta de pipeta desmontable y para colocar una punta de pipeta instalada en comunicación con dicha fuente de succión;

40 un circuito de identificación adaptado para detectar partículas que se mueven a través de dicha punta de pipeta instalada;

una fuente de energía eléctrica en asociación funcional con:

45 un panel de visualización capaz de presentar visualmente información a un usuario; y

un microprocesador y una memoria asociada; en donde:

50 dicha interfaz de punta de pipeta además está estructurada y dispuesta para disponer dicha punta de pipeta instalada en comunicación con dicho circuito de identificación, estando dicho circuito de identificación configurado para recibir una señal de entrada de dicha punta de pipeta instalada cuando dicha punta de pipeta es del tipo que se estructura para cooperar con dicho circuito de identificación (132, 170) de manera que se haga que un valor de dicha señal de entrada varíe con el tiempo en respuesta a partículas atrapadas en un fluido que fluye a través de dicha punta de pipeta.

55 El documento WO 2005/121780 describe propipetas que incluyen sensores para detectar parámetros útiles para el manejo de fluidos. Una propipeta puede incluir un sensor de impedancia integral útil para contar partículas y/o calcular la concentración de partículas.

60 Descripción de la invención

La invención provee un instrumento de pipeta de mano según se especifica en la reivindicación 1. El instrumento de pipeta se puede utilizar para identificar partículas en una muestra de fluido a medida que la muestra se extrae de un recipiente de fluido a granel que contiene partículas.

65 La invención provee un método de recuento de partículas según se especifica en la reivindicación 8.

El instrumento de pipeta puede incluir un elemento de barrera hidrófobo dispuesto para resistir el flujo de fluido desde una punta de pipeta instalada hasta después del elemento de barrera y más allá hacia el instrumento de pipeta. Generalmente, se dispone un transductor de presión en comunicación con el microprocesador para monitorizar un perfil de presión de succión suministrado a la interfaz de punta de pipeta. Los instrumentos de pipeta pueden incluir un puerto USB estructurado para permitir la comunicación entre el instrumento de pipeta y un terminal remoto. Se contempla proporcionar un módulo de comunicación inalámbrica estructurado para permitir la comunicación entre el instrumento de pipeta y un terminal remoto. Se puede cargar un software en la memoria que es eficaz para programar el microprocesador con el fin de que permita que el instrumento de pipeta realice una prueba seleccionada.

Los instrumentos de pipeta preferidos incluyen un sistema de control de usuario que puede funcionar para seleccionar un modo de funcionamiento deseado del instrumento de pipeta de entre una pluralidad de modos de funcionamiento. Un sistema de control operable por un usuario incluye una rueda de seguimiento y un botón de inicio. Se puede disponer una rueda de seguimiento para que entre en contacto para accionar al rodar a lo largo de un eje longitudinal de un dedo de la mano que está sosteniendo el cuerpo de pipeta, de manera que la rueda esté dispuesta en coincidencia con una porción distal del dedo de un usuario. Además, la rueda de seguimiento puede estar estructurada para proporcionar una entrada en el instrumento de pipeta al permitir que un dedo presione la rueda de seguimiento en un movimiento de activación-apriete.

Una fuente operable de succión incluye un vacío excedente en un depósito, y un regulador que funciona para regular hacia abajo el vacío excedente dispuesto para actuar entre el depósito y la interfaz de punta de pipeta que es eficaz para colocar un perfil de vacío deseado en comunicación con una punta de pipeta instalada. Se puede crear un vacío excedente mediante el desplazamiento del usuario de un elemento de desvío asociado con el cuerpo. El vacío excedente también se puede crear con una bomba eléctrica. Una fuente preferida de succión comprende una bomba eléctrica operable bajo el control del microprocesador directamente para generar un perfil de succión deseado real suministrado a la interfaz de punta de pipeta.

Estas características, ventajas y aspectos alternativos de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de una consideración de la siguiente descripción detallada en combinación con los dibujos que la acompañan.

Breve descripción de los dibujos

En los dibujos, que ilustran los que actualmente se consideran los mejores modos de llevar a cabo la invención:

la Figura 1 es una vista frontal elevada de un instrumento de pipeta estructurado según determinados principios de la invención instantánea;

la Figura 2 es una vista lateral elevada de la pipeta ilustrada en la Figura 1;

la Figura 3 es una vista frontal en perspectiva del lado derecho del instrumento de pipeta de la Figura 1, parcialmente desmontado;

la Figura 4 es una vista lateral izquierda en perspectiva de la pipeta de la Figura 3;

la Figura 5 es una vista frontal en perspectiva de un instrumento de pipeta alternativo, parcialmente desmontado;

la Figura 6 es una vista lateral de despiece en perspectiva del conjunto de un instrumento de pipeta estructurado según determinados principios de la invención instantánea;

la Figura 7 es una vista lateral fragmentada en sección de una porción de un instrumento de pipeta estructurado según determinados principios de la invención instantánea

la Figura 8 es un esquema de una disposición de circuito de identificación operable que se puede llevar en un instrumento de pipeta estructurado según determinados principios de la invención instantánea;

la Figura 9 es un esquema que ilustra una disposición operativa de trabajo de un instrumento de pipeta;

las Figuras 10 a 12 ilustran datos obtenidos en determinadas operaciones de un instrumento de pipeta; y

la Figura 13 es un diagrama de flujo que ilustra determinadas etapas que se pueden realizar en una operación de ejemplo de un instrumento de pipeta.

Formas de llevar a cabo la invención

Ahora se hará referencia a los dibujos en los que a los diversos elementos de la invención se les darán designaciones numéricas y en los que se describirá la invención con el fin de permitir que un experto en la técnica realice y utilice la invención. Se ha de comprender que la siguiente descripción es solo un ejemplo de los principios de la presente invención, y no se deberán ver como límites de las reivindicaciones que siguen.

En referencia a las Figuras 1 y 2, una pipeta de mano estructurada según determinados principios de la invención instantánea se indica generalmente con 100. En la descripción que sigue, y en aras de la brevedad, se hará referencia a la pipeta de mano simplemente como pipeta. La pipeta 100 incluye un cuerpo 102 extendido, generalmente cilíndrico. Una superficie de cuerpo 102 está estructurado para formar un área 104 de sujeción de palma y un área de sujeción de dedo, generalmente 106.

La pipeta 100 ilustrada incluye una pluralidad de controles que forman un sistema para recibir una entrada de usuario, que incluye un botón 108, y una rueda 110 de desplazamiento. Según se ilustra, el botón 108 se dispone para el accionamiento del usuario mediante el pulgar del usuario, durante una operación con una sola mano de la pipeta 100. La rueda 110 de desplazamiento se dispone para encajarse bajo el dedo de un usuario, tal y como el dedo índice, y se puede accionar haciéndolo rodar a lo largo un eje longitudinal de un dedo de la mano que está sosteniendo el cuerpo 100. Una rueda 110 de desplazamiento preferida actualmente también se adapta para recibir el accionamiento al presionar la rueda completa con la punta del dedo, similar a tirar del gatillo de un arma. Se puede incluir un dispositivo 112 de visualización, p.ej., para indicar las opciones de selección a un usuario y para mostrar resultados de datos.

Un extremo distal de pipeta 100 está estructurado para recibir una de una pluralidad de puntas de pipeta, tal y como la punta 114 instalada. La punta 114 de pipeta se puede caracterizar como una punta de pipeta instrumentada, en el sentido de que se prevé que la punta 114 coopere con la pipeta 100 para identificar partículas a medida que el fluido se aspira a través de la punta 114. En general, las puntas de pipeta de instrumentadas que cooperan con un instrumento de pipeta se utilizan una vez y luego se desechan. Un módulo de interfaz de punta, generalmente 116, se puede proveer para facilitar el mantenimiento regular de un instrumento de pipeta, tal y como una pipeta 100, como se describirá en mayor detalle a continuación.

En referencia particular a las Figuras 3 y 4, se señalarán determinados detalles de la construcción de un instrumento 100 de pipeta operable. El cuerpo de la pipeta 100 aloja una bomba 120 de vacío dispuesta en circuito con el botón 108 para efectuar una succión en una punta de pipeta instalada. En la realización 100, el botón 108 sirve como interfaz familiar a un usuario de un instrumento de pipeta de mano convencional. Se utilizan un depósito 122 de aire y colector 124 neumático para regular un perfil de presión que se aplica a largo de un incremento de tiempo a una punta de pipeta, tal y como la punta 114. El transductor 126 de presión proporciona una señal de retroalimentación para el sistema de control. La válvula 128 solenoide se utiliza como válvula de purga para finalizar la succión aplicada por la bomba y depósito. El sistema de control está controlado por un microprocesador programable y una memoria 130 asociada, que se pueden programar de manera variada para realizar automática y sustancialmente una prueba deseada. Se puede cargar un software en la memoria que es eficaz para programar el microprocesador con el fin de que permita que el instrumento de pipeta realice una prueba seleccionada.

El sistema de succión asociado con un instrumento de pipeta tiene, de manera deseable, un transductor de presión integrado dispuesto para medir el perfil de presión real que se suministra a una punta de pipeta desmontable. Al día de hoy, se han construido y probado tres tipos de sistemas de succión: 1) Generar vacío excedente utilizando un cilindro de aire accionado manualmente y regularlo hacia abajo utilizando un válvula proporcional y transductor de presión controlado por microprocesador. Venteo con una válvula solenoide. 2) Generar el vacío según sea necesario utilizando un circuito PID controlado por microprocesador con una pequeña bomba de vacío (bajo demanda) y un transductor de presión. Venteo con una válvula solenoide. Esta es la realización preferida en la actualidad. También es deseable incluir un "tanque de depósito" para amortiguar el vacío aplicado, pero que no es esencial. 3) Desarrollar vacío excedente utilizando una bomba (almacenada en un depósito) y regularla hacia abajo utilizando un válvula proporcional y transductor de presión controlado por microprocesador. Ventear el vacío después de que se aplica el perfil utilizando una válvula solenoide. En este último caso, el vacío excedente se puede crear mediante desplazamiento del usuario de un elemento de desvío asociado con el cuerpo de pipeta (p.ej., desplazar mecánicamente un cilindro o diafragma de desvío, etc.).

La electrónica de identificación, generalmente 132, se dispone en circuito de conexión con determinadas puntas de pipeta instaladas. La electrónica de identificación está configurada para detectar y/o interpretar el fenómeno del principio de Coulter y/o el fenómeno de cambio de Stokes, que ocurren integrados en la punta de pipeta. La electrónica de identificación está configurada para comunicar una o más señales aplicadas a la punta de pipeta, y retransmitir una señal resultante desde la punta de pipeta al microprocesador para manipulación de datos y, generalmente, visualizar una salida en un dispositivo 112 de visualización. De manera deseable, se proporciona un enlace de comunicación, tal y como un conector 134 de USB, transmisor inalámbrico, u otro dispositivo de comunicación para facilitar la transmisión de los datos de señal de prueba procesados y/o adquiridos hacia un terminal remoto o instalación de almacenamiento

La energía eléctrica se proporciona, de manera deseable, de una fuente de energía eléctrica recargable, tal y como un conjunto de baterías generalmente indicado con 136. Sin embargo, se contempla que el dispositivo 100 se pueda

realizar como un dispositivo cableado que recibe energía de un servicio eléctrico enchufado, tal y como una toma de corriente.

La Figura 5 ilustra una disposición alternativa que provee un perfil de presión a una punta de pipeta. La realización que generalmente se indica con 140 incluye un cilindro 142 de vacío dispuesto en circuito fluido con una válvula 144 proporcional y un colector 124 neumático. El transductor 126 de presión proporciona una señal de retroalimentación al microprocesador, que está programado para aplicar un perfil deseado a una punta de pipeta instalada. Se incluye una válvula 128 de purga en un circuito de fluido operable para liberar la succión al finalizar un perfil de presión aplicado. Los tramos entubados que colocarían los diversos componentes en un circuito fluido se han omitido en aras de la claridad.

La Figura 6 ilustra determinados detalles deseables de una interfaz de punta preferida actualmente, generalmente indicada como 148. Una barrera 150 hidrófoba reemplazable se lleva en un módulo 116 desmontable, y resiste el flujo de fluido más allá de sí misma y hacia el interior del instrumento de pipeta generalmente indicado como 152. Por lo tanto, el fluido aspirado se retiene al menos sustancialmente dentro de una punta de pipeta desmontable. La junta tórica 154 se dispone para formar un sello contra un lado de una punta de pipeta instalada a través de la cual se transmite el perfil de succión aplicado. Se puede incluir un muelle 156 para proporcionar una desviación para fomentar la formación de un sello adecuado y efectivo entre la junta tórica 154 y una superficie de cooperación de la punta.

Determinados detalles de las interfaces de punta de pipeta operable se ilustran en la Figura 7. La porción de pipeta generalmente indicada con 160 porta, de manera deseable, una estructura de orientación que es eficaz para facilitar el acoplamiento con una punta 162 de pipeta desmontable. Se puede posicionar una punta 162 instalada para acoplarse con un conector 164 de borde opcional, eficaz para colocar el circuito de identificación en comunicación con electrodos portados por la punta 162. Por lo tanto, el circuito de identificación puede detectar y/o interpretar el fenómeno del principio de Coulter, que ocurre integrado en la punta de pipeta a medida que se aspira el fluido en la punta 162.

De manera alternativa, o adicionalmente, la punta 162 instalada se puede posicionar entre una fuente 166 de radiación y un receptor 168 de radiación. La fuente 166 y el receptor 168 colocan el circuito de identificación en comunicación con la punta 162 de pipeta que es eficaz para detectar y/o interpretar el fenómeno de cambio de Stokes que puede ocurrir integrado en la punta de pipeta a medida que se aspira el fluido hacia la punta 162. Una fuente de radiación operable puede incluir un cable de fibra óptica, que permite una disposición remota de una fuente de radiación (p.ej., láser, LED) en una ubicación conveniente de una pipeta. De manera similar, el receptor puede incluir un cable de fibra óptica dispuesto para transportar una señal con fases alternas a un detector de radiación dispuesto en una ubicación remota conveniente. Ubicar determinados componentes en una ubicación remota facilita la construcción de un área de punta de pipeta más delgada.

Un circuito de identificación operable se indica generalmente con 170 en la Figura 8. Un microprocesador y memoria 172 se colocan, de manera deseable, en una relación de cooperación operable con el circuito 170 de identificación. Uno o más de un generador 174 de señal eléctrica está dispuesto para aplicar una señal con referencia a tierra 176 hacia pasadores, generalmente 178, de una interfaz de comunicación por una punta 114 de pipeta desmontable, tal y como un conector 164 de borde. Se puede incluir una fuente 180 de luz para aplicar una señal de radiación a una zona de identificación de una punta de pipeta. Un detector de señal, tal y como un ohmímetro 182 y/o detector 184 de luz, está dispuesto para identificar señales correspondientes recibidas de una punta.

Los diversos pasadores de conector 164 se comunican individualmente para seleccionar electrodos dispuestos en la punta de pipeta. Los electrodos portados por una punta 114 se pueden proveer para formar electrodos estimulados para aplicar una señal a fluidos que fluyen a través de la punta; los electrodos de identificación que devuelven una señal de datos desde la punta de la pipeta; y cebar electrodos que pueden estar dispuestos para indicar la ubicación de un frente de ola de fluido en determinadas ubicaciones dispuestas a lo largo de un conducto que pasa por la punta. Se pueden utilizar electrodos de cebado para, por ejemplo, iniciar y detener una prueba que está al menos parcialmente automatizada. Los electrodos también se pueden utilizar para proveer una señal de continuidad, por ejemplo: para verificar la instalación adecuada de una punta en la pipeta, o para identificar una punta específica y realizar un procedimiento de recolección de datos correspondiente.

La Figura 9 ilustra una operación de un instrumento de pipeta representativo, que generalmente se indica con 210. La pipeta 210 puede a veces estar conectada a través de un cable 212, tal y como un cable USB, a un receptor 214 de datos remoto, tal y como un ordenador personal. Los datos de prueba se pueden cargar al receptor 214 a través del cable 212, o en determinadas realizaciones, utilizando una comunicación 216 inalámbrica.

Durante una prueba de identificación de partículas representativas, se prefiere actualmente aplicar un perfil de presión de succión que comienza a aproximadamente la presión de atmosférica local, después se dispara a una presión sustancialmente constante de aproximadamente 20 pulgadas de H₂O (vacío) durante 2-5 segundos, y después se dispara a aproximadamente 40 pulgadas de H₂O (vacío) durante el resto de la prueba. En general, un evento rampa se realiza sustancialmente como una etapa de cambio de presión, dentro de las capacidades del equipo. Sin embargo, ya sea con un evento rampa, o como un perfil de presión completo, se puede estructurar para aplicar cualquier función

de presión sobre cualquier incremento de tiempo que se desee en cualquier caso específico. Por supuesto, diferentes perfiles de presión se pueden aplicar a diferentes puntas de pipeta, tal y como puntas que se utilizan para diferentes pruebas. Como un ejemplo no limitante, las puntas estructuradas para identificar partículas más grandes puede requerir un perfil de presión diferente que las puntas estructuradas para identificar partículas mucho más pequeñas.

5 En determinados casos, un perfil de presión plano, o una presión sustancialmente constante que presenta cualquier magnitud operable, se puede aplicar para obtener resultados de trabajo efectivos para muchas, si no todas, las puntas de pipeta.

Las Figuras 10 a 12 son capturas de pantalla (histogramas) de recuento de partículas frente al tamaño de partículas, y son representativas de datos que se pueden obtener y visualizar. La Figura 10 es un histograma de una suspensión de partículas que contiene tres microesferas de látex de tamaños diferentes (8, 10, y 15 μm). La Figura 11 ilustra resultados de pruebas de una suspensión de una distribución estrecha de una única población de microesferas de 10 μm de precisión. Y, finalmente, la Figura 12 es un histograma de una suspensión de partículas que contiene una población de células de mamíferos cultivadas con un tamaño medio de aproximadamente 16 μm .

15 Para operar una pipeta representativa: 1) Presionar/hacer clic en la rueda de seguimiento para encender la pipeta. 2) Tomar una punta (insertar punta) 3) Presionar el émbolo principal (botón 108) 4) Colocar el extremo distal de la punta en una muestra líquida 5) liberar el émbolo (el sistema comienza automáticamente). 6) El usuario observa a medida que se forma el histograma en vivo. 7) La prueba se detiene de manera automática y muestra el recuento volumétrico de las partículas entre dos líneas controladas por el usuario en la pantalla. 8) La rueda de seguimiento se puede desplazar hacia atrás y adelante para mover cada una de las dos líneas mencionadas anteriormente con el fin de seleccionar los datos de interés. 9) Presionar dos veces rápidamente la rueda de seguimiento para salir de la pantalla de visualización del histograma. 10) La rueda de seguimiento se puede utilizar (desplazamiento y/o indexación) para navegar por los menús (es decir, guardar ficheros, recuperar ficheros, transferir ficheros, etc.). 11) El cable de USB se puede utilizar para recargar la batería y transferir ficheros de histogramas a un ordenador.

Determinadas etapas y características operativas se describen ahora en referencia a la Figura 13. En general, un usuario selecciona una prueba de partícula deseada mediante una entrada de control, en general con la rueda de desplazamiento y con referencia a uno o más de uno de los menús que se presentan en el dispositivo 112 de visualización. Se instala una punta de pipeta en una pipeta, y la punta se sumerge en un recipiente de fluido a granel para someterlo a prueba. Se aplica succión según se indica en la etapa 220. Una señal de activación obtenida de la punta de pipeta se puede utilizar para iniciar la recolección de datos, tal y como se indica en la etapa 224. El microprocesador procesa al menos una señal obtenida de la punta a medida que se aspira fluido, y genera un histograma en tiempo real, tal y como se indica en la etapa 226. Se puede utilizar una segunda señal de activación para finalizar la recolección de datos, según se indica en la etapa 228. Así se finaliza la succión aplicada, tal y como se indica en la etapa 230. Si se desea, la corrección de coincidencia se puede realizar en una porción de datos visualizada, tal y como se indica en la etapa 232. La punta de pipeta se desecha, en general, después de un único uso.

40 En una realización preferida actualmente, la señal de datos (el voltaje diferencial en la realización preferida actualmente) se obtiene de la punta y se amplifica inmediatamente. Luego se digitaliza y se ejecuta mediante un algoritmo de búsqueda de crestas (o búsqueda de pulsos) en tiempo real por el microprocesador. Actualmente, se detectan las crestas que superan un umbral de tamaño determinado (es decir, umbral de voltaje) y la correspondiente cresta de voltaje se coloca en un "bin" que corresponde al tamaño de partícula. Actualmente se utilizan 400 bins separados (es decir, barras individuales) para el histograma. Estos bins crecen a medida que se detectan más y más partículas que presentan la misma cresta de voltaje. El recuento de partículas "observadas" es el recuento obtenido directamente del histograma bruto, generalmente entre dos líneas (es decir, una umbral inferior y superior) que el usuario puede posicionar. El recuento observado se corrige por coincidencia para obtener el recuento "verdadero". Los recuentos observados son casi iguales a los recuentos Verdaderos en concentraciones bajas de partículas. Se puede utilizar una ecuación de factor *fudge* para determinar el recuento Verdadero de los recuentos Observados. Un operador de dicha ecuación se describe en el documento "Coincidence correction for electrical-zone (Coulter-counter) particle size analysers" de E.J. Wynn and M. J. Hounslow, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Cambridge, Pembroke Street, Cambridge CB2 3RA, GB.

55 Las puntas de pipeta se pueden calibrar (para su corrección de coincidencia) utilizando diluciones en serie de microesferas de látex (según el documento mencionado anteriormente). El usuario TAMBIÉN puede calibrar (este es un tipo de calibración diferente) el eje x de la pipeta (tamaño de partícula) utilizando disoluciones de microesferas de látex de un tamaño conocido. Este es un proceso manual en el que el usuario marca el eje x para que coincida con el tamaño de microesferas conocido.

60 Una señal de estímulo tipo Coulter representativa aplicada a una punta de pipeta mediante el circuito de identificación incluye una señal y un punto a tierra. Actualmente se prefiere suministrar una fuente y una carga para un estímulo de corriente constante utilizando un electrodo dispuesto en cada lado de un orificio de identificación portado por una punta de pipeta. La clave es pasar, de alguna manera, una señal mensurable a través del orificio. A pesar de que actualmente es preferible aplicar una corriente constante, también es posible aplicar un voltaje constante, aunque no es lo ideal. Actualmente se prefiere el uso de un estímulo de CC, pero también puede ser de CA. Se requiere al menos un

electrodo de medición. Actualmente se prefiere utilizar dos (uno dispuesto en cada lado del orificio de identificación), en un modo diferencial.

- 5 A pesar de que se ha descrito la invención en particular con referencia a determinadas realizaciones ilustradas, las mismas no pretenden limitar el alcance la invención. La presente invención se puede realizar de otras formas específicas sin desviarse de sus características esenciales. Las realizaciones descritas se han de considerar ilustrativas y no restrictivas. El alcance de la invención está, por tanto, indicado en las reivindicaciones adjuntas más que por la descripción anterior. Todos los cambios que surjan dentro del significado de las reivindicaciones han de ser considerados como dentro de su alcance.

REIVINDICACIONES

1. Un instrumento (100, 140, 152, 210) de pipeta de mano, comprendiendo el instrumento de pipeta:

- 5 una punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada; y
 un cuerpo (102) que lleva:
 una fuente de succión (120, 142);
 10 una interfaz (148) de punta de pipeta configurada para sostener dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada y para colocar dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada en comunicación con dicha fuente de succión (120, 142); y
 15 una fuente de energía (136) eléctrica en asociación funcional con:
 un panel (112) de visualización capaz de presentar visualmente información a un usuario; y
 un microprocesador y una memoria (130,172) asociada; en donde:
 20 dicha interfaz (148) de punta de pipeta está además estructurada y dispuesta para disponer dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada en comunicación con el circuito (132,170) de identificación portado por dicho cuerpo y configurado para recibir una señal de entrada de dicha punta de pipeta desmontable instalada, estando dicho circuito (132, 170) de identificación adaptado para contar partículas para la detección de
 25 señales que derivan del fenómeno de cambio de Stokes que ocurre en dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada y/o dicho circuito (132, 170) de identificación está adaptado para contar partículas mediante la detección de señales que derivan del fenómeno del principio de Coulter que ocurre en dicha punta (114,162) de pipeta desmontable instalada, en donde el instrumento de pipeta está configurado para permitir durante el uso un límite de umbral de voltaje inferior y un límite de umbral de voltaje superior de las
 30 señales detectadas a seleccionar y en donde el instrumento de pipeta está configurado para calcular un recuento de partículas en base a los datos recolectados entre los límites seleccionados.

2. El instrumento de pipeta según la reivindicación 1, además comprende un elemento (150) de barrera hidrófoba portada en un módulo (116) de interfaz de punta desmontable y adaptada para resistir el flujo de fluido de dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada pasado dicho elemento (150) de barrera y hacia el interior del instrumento de pipeta.

3. El instrumento de pipeta según la reivindicación 1 o 2, que además comprende:
 un sistema de control operable por el usuario que se opera para seleccionar un modo deseado de operación de dicho instrumento de pipeta de entre una pluralidad de modos operables, dicho sistema de control operable comprende una
 40 rueda (110) de seguimiento dispuesta para estar en contacto para accionar al rodar a lo largo de un eje longitudinal de un dedo de la mano que está sosteniendo dicho cuerpo y estructurado para proporcionar una entrada a dicho instrumento de pipeta al permitir que dicho dedo presione dicha rueda (110) de seguimiento en un movimiento de activación-apriete.

4. El instrumento de pipeta según la reivindicación 1, 2 o 3, que además comprende:
 un transductor (126) de presión en comunicación con dicho microprocesador (130) y dispuesto para monitorizar un perfil de presión de succión suministrado a dicha interfaz (148) de punta de pipeta.

5. El instrumento de pipeta según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde:

- dicha fuente de succión comprende un vacío excedente en un depósito (142); y
 un regulador (144) operable para regular hacia abajo dicho vacío excedente se dispone para su accionamiento entre dicho depósito (142) y dicha interfaz (148) de punta de pipeta que es eficaz para colocar un perfil de vacío deseado en comunicación con dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada.

6. El instrumento de pipeta según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde:
 dicha fuente de succión comprende una bomba (120) eléctrica operable bajo el control de dicho microprocesador directamente para generar un perfil de succión deseado real suministrado a dicha interfaz (148) de punta de pipeta.

7. El instrumento de pipeta según la reivindicación 1, en donde:

- una porción (102) de mano de dicho instrumento de pipeta está configurada tanto:
 65 para aplicar una primera señal a dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada; y

para recibir una segunda señal de dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada, siendo dicha segunda señal diferente de dicha primera señal.

- 5 8. Un método de recuento de partículas utilizando el instrumento de pipeta de mano de la reivindicación 1 que comprende:
- proporcionar el instrumento de pipeta de mano
 - 10 detectar señales que resultan del fenómeno de cambio de Stokes que ocurre en la punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada del instrumento de pipeta; y/o
 - detectar señales que resultan del fenómeno de principio de Coulter que ocurre en dicha punta (114, 162) de pipeta desmontable instalada,
 - 15 seleccionar un límite de umbral de voltaje inferior y un límite de umbral de voltaje superior de las señales detectadas; y
 - calcular un recuento de partículas en base a datos recolectados entre los límites seleccionados.

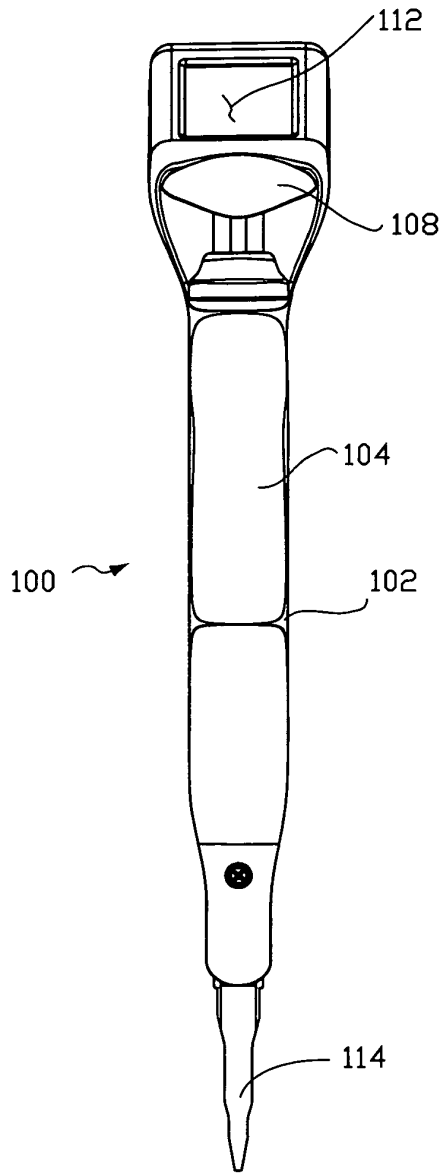


FIG. 1

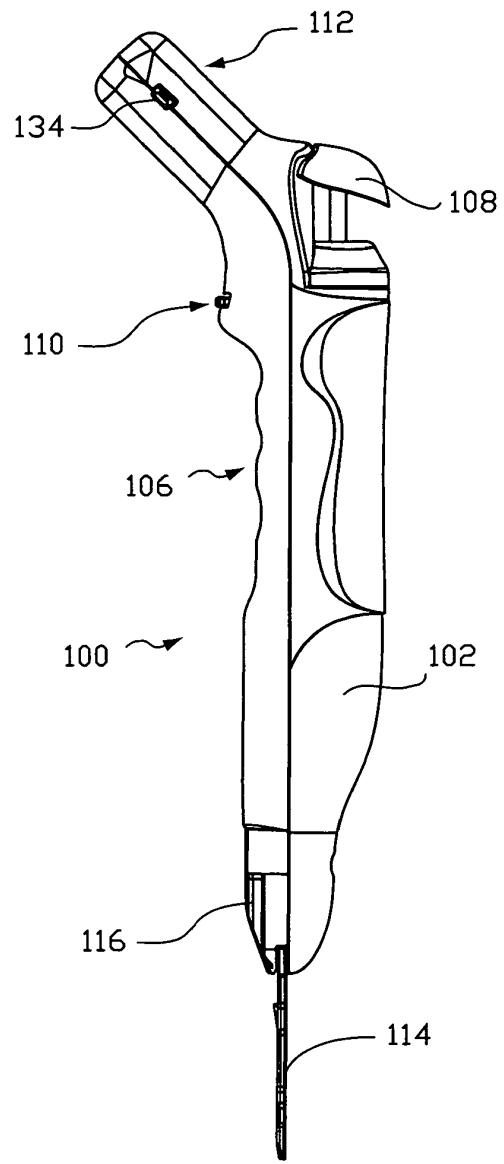


FIG. 2

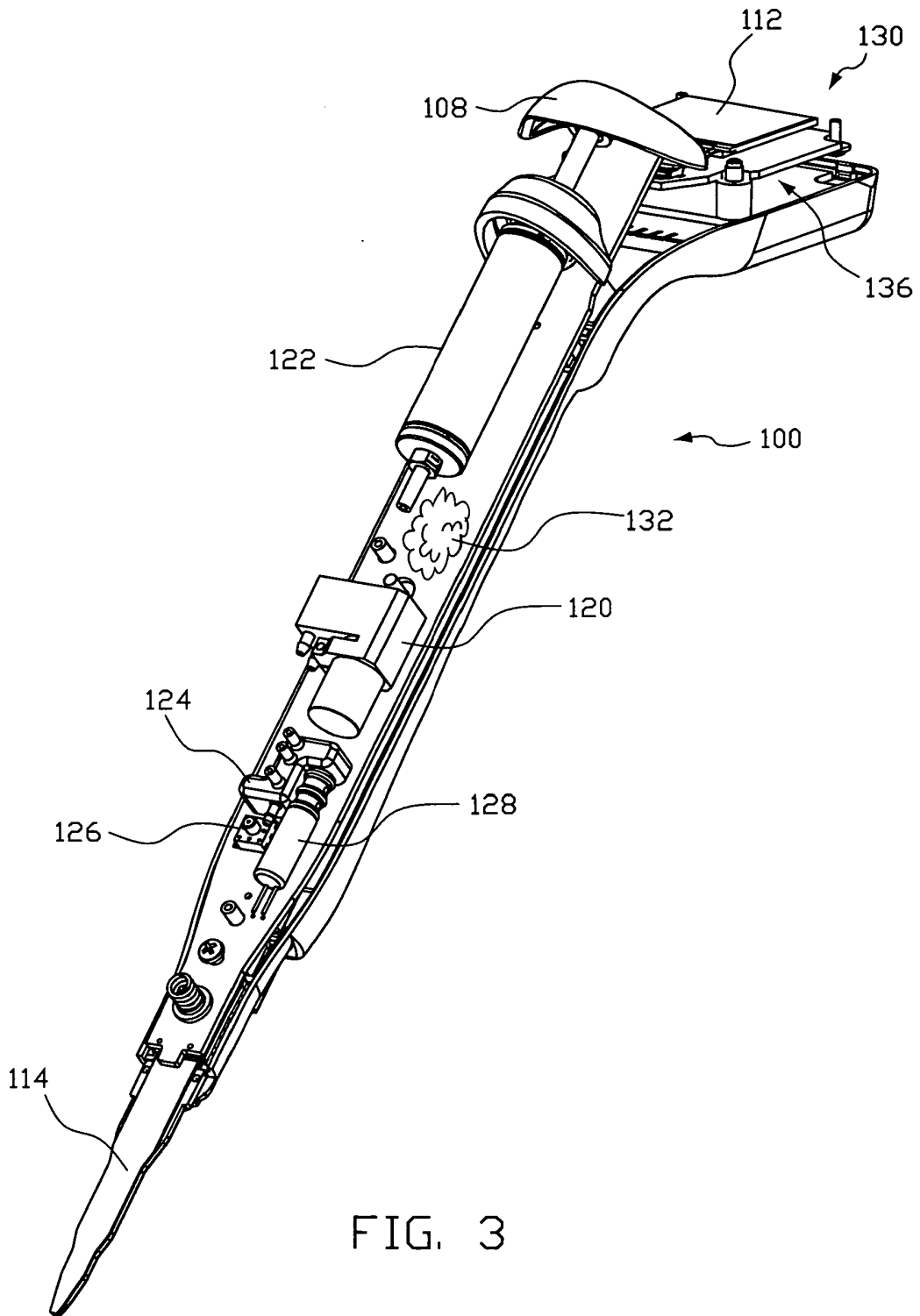


FIG. 3

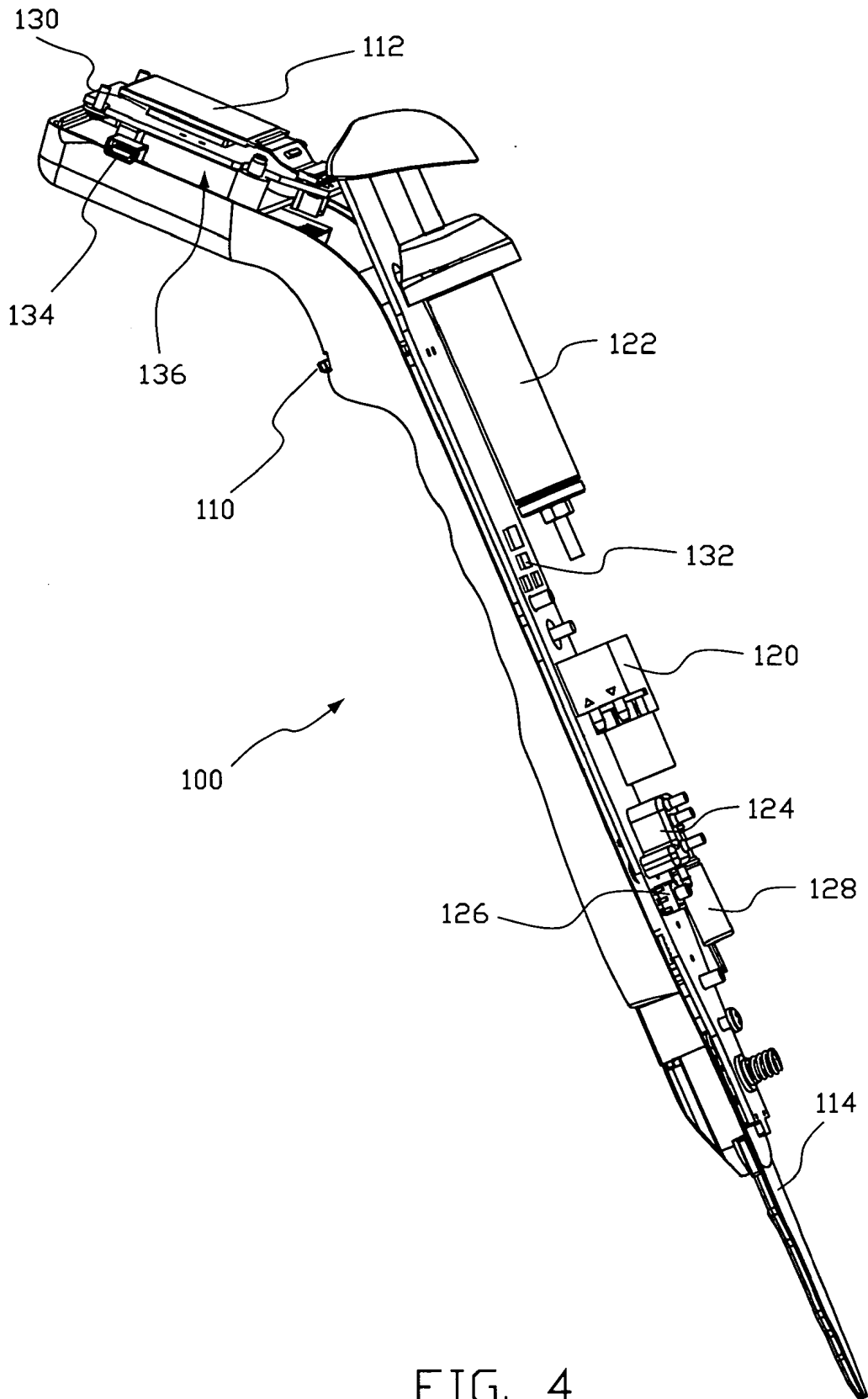


FIG. 4

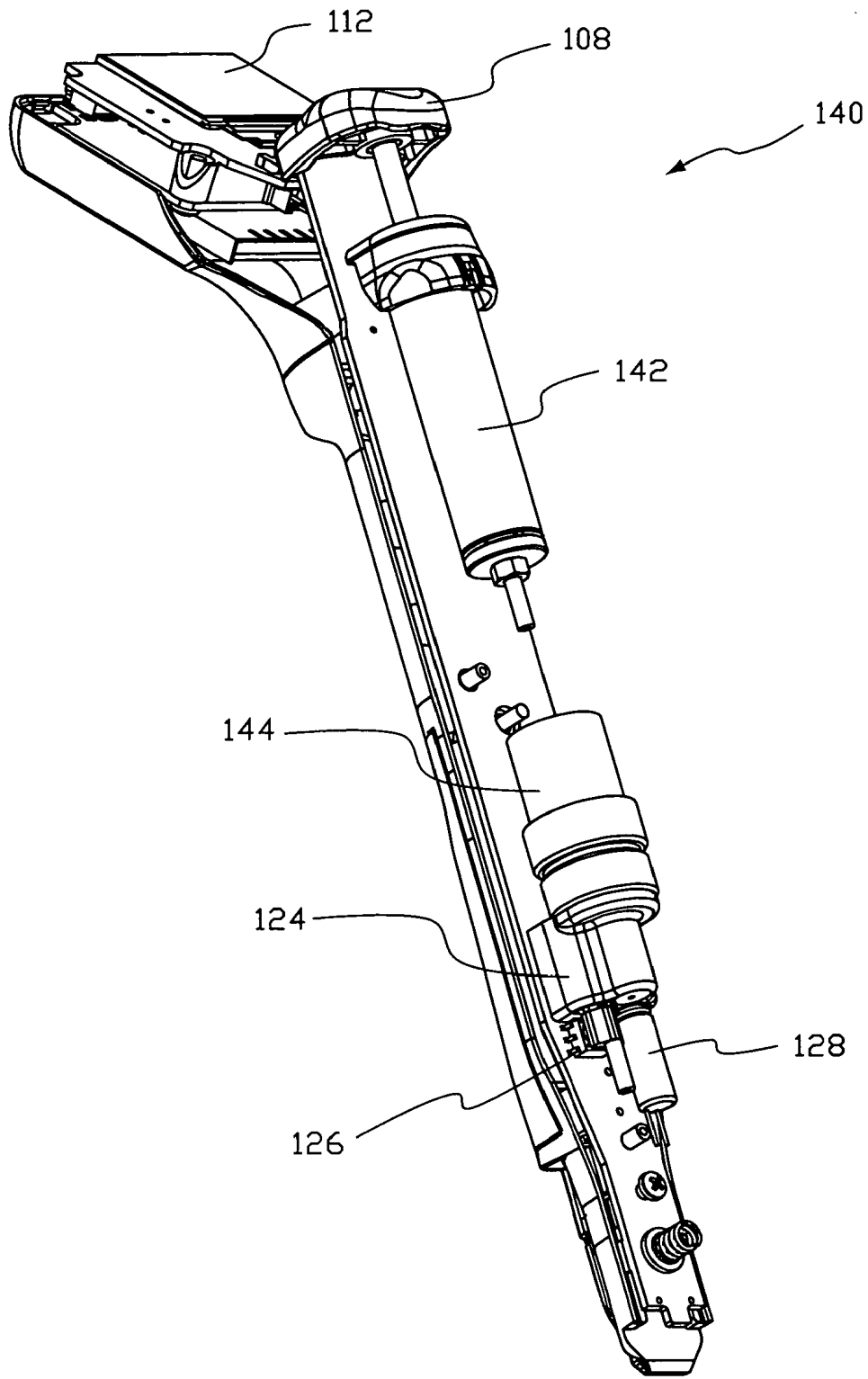


FIG. 5

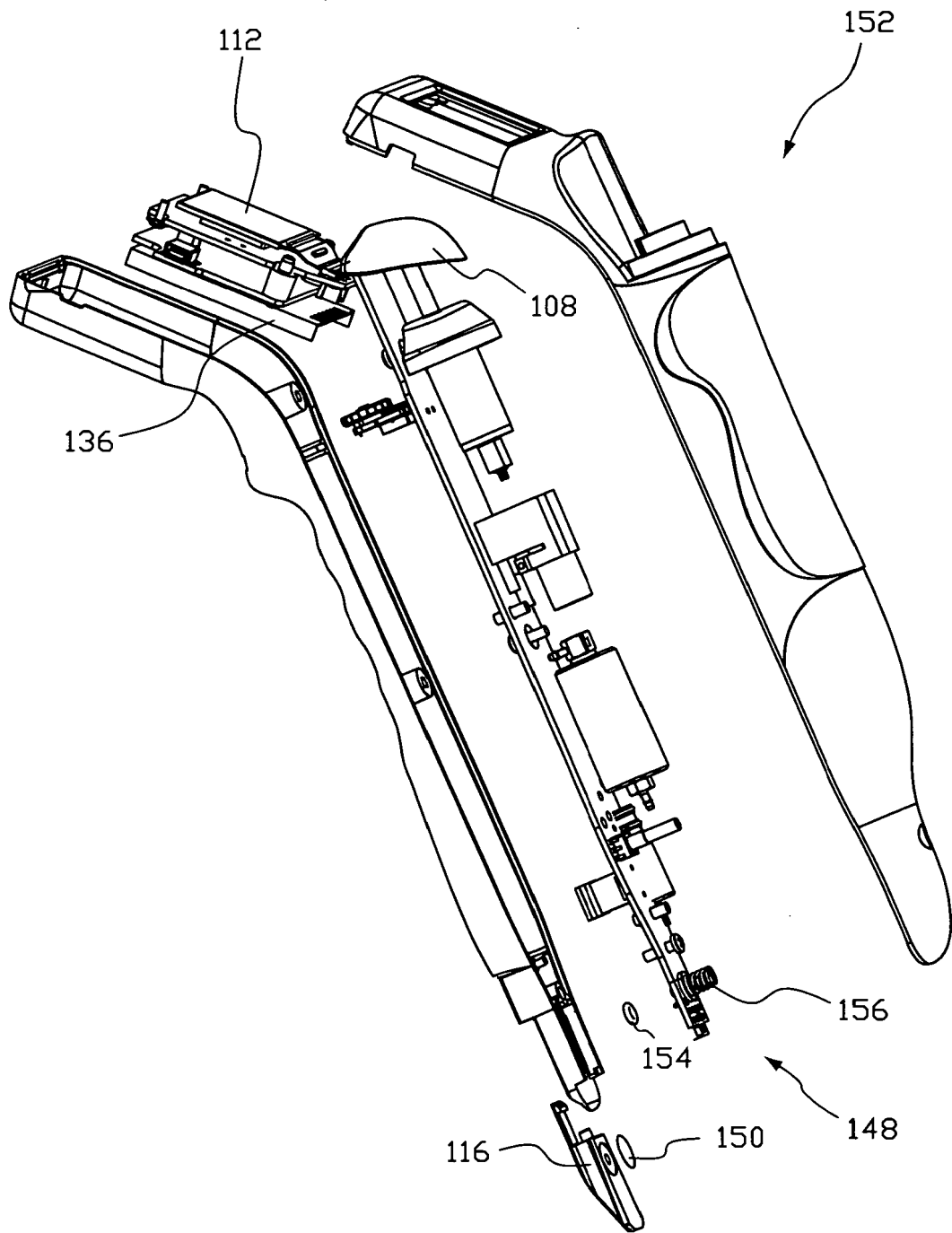


FIG. 6

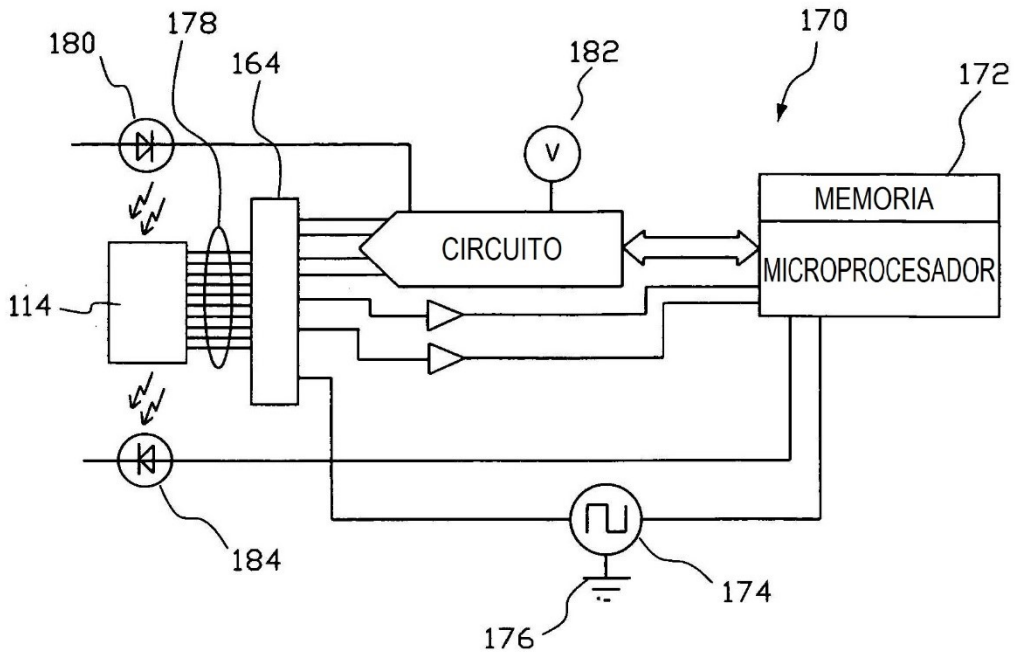


FIG. 8

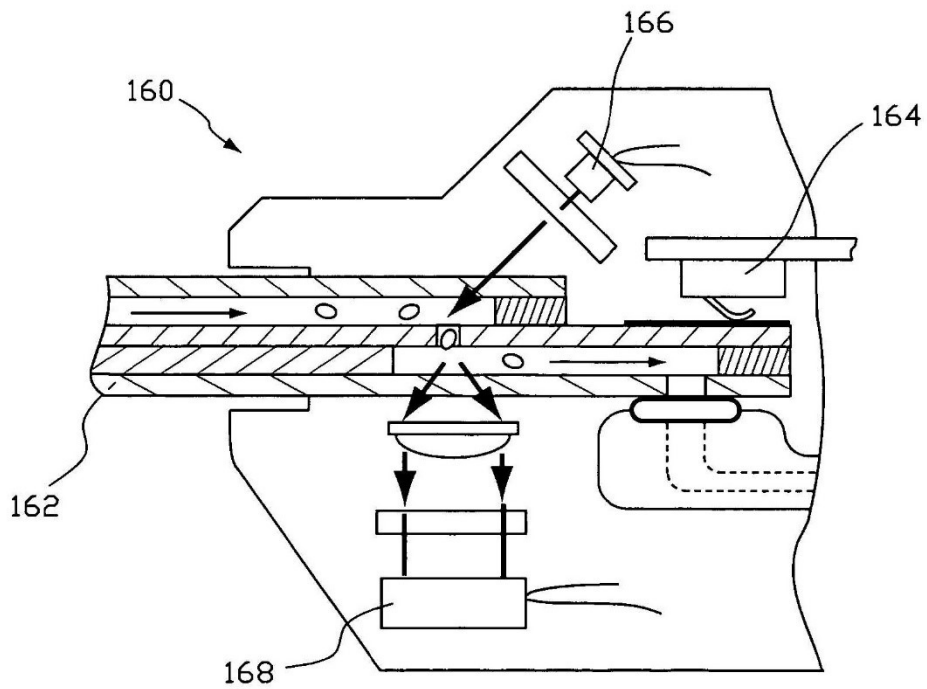


FIG. 7

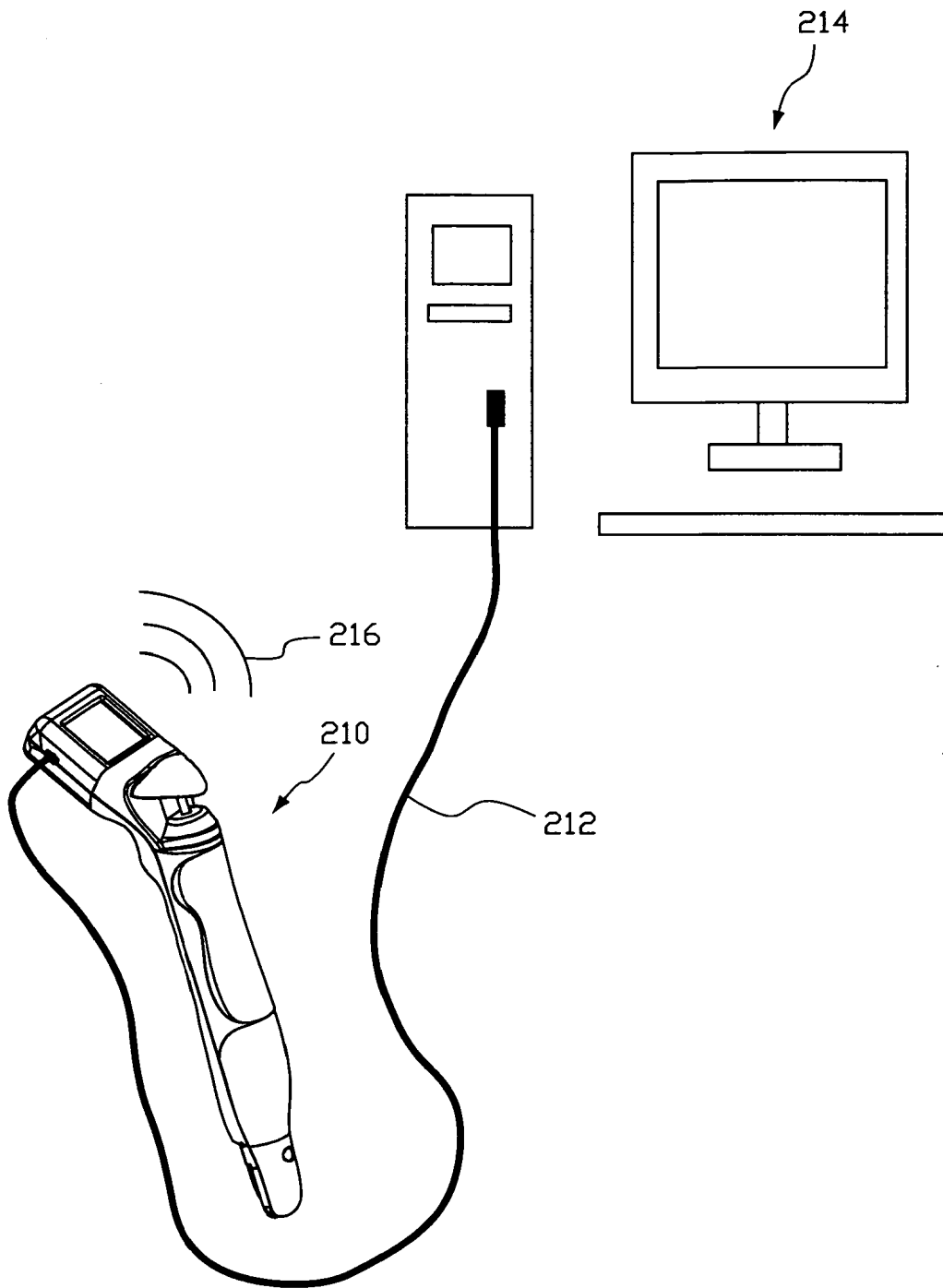


FIG. 9

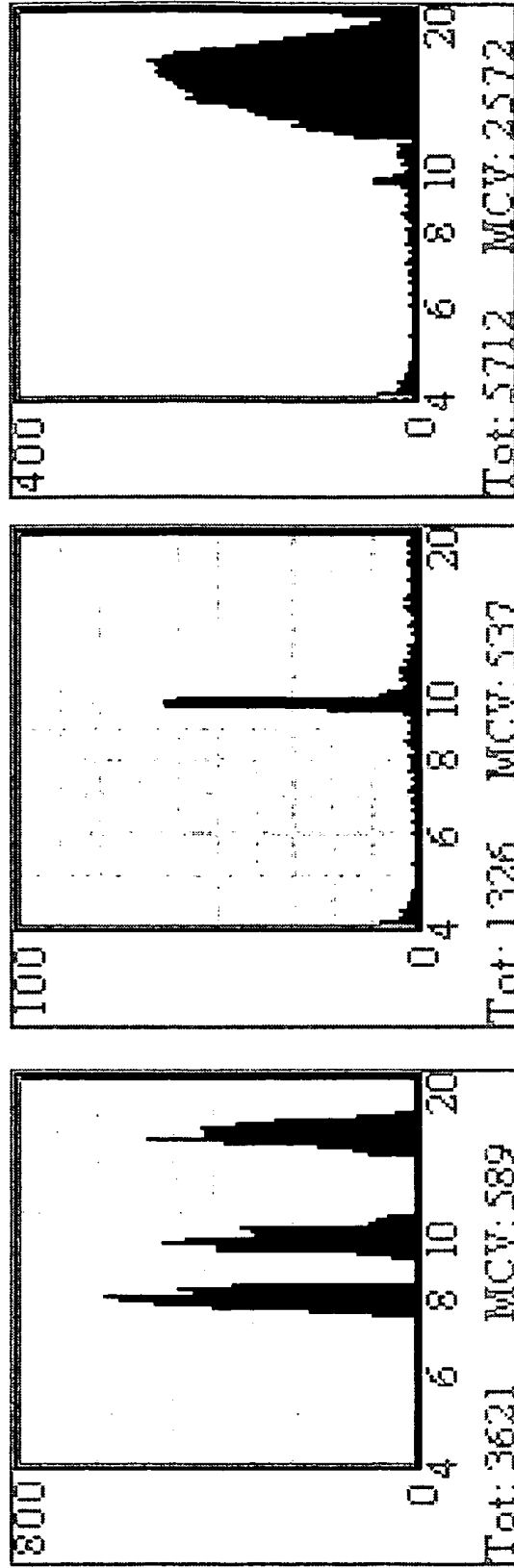


FIG. 10 FIG. 11 FIG. 12

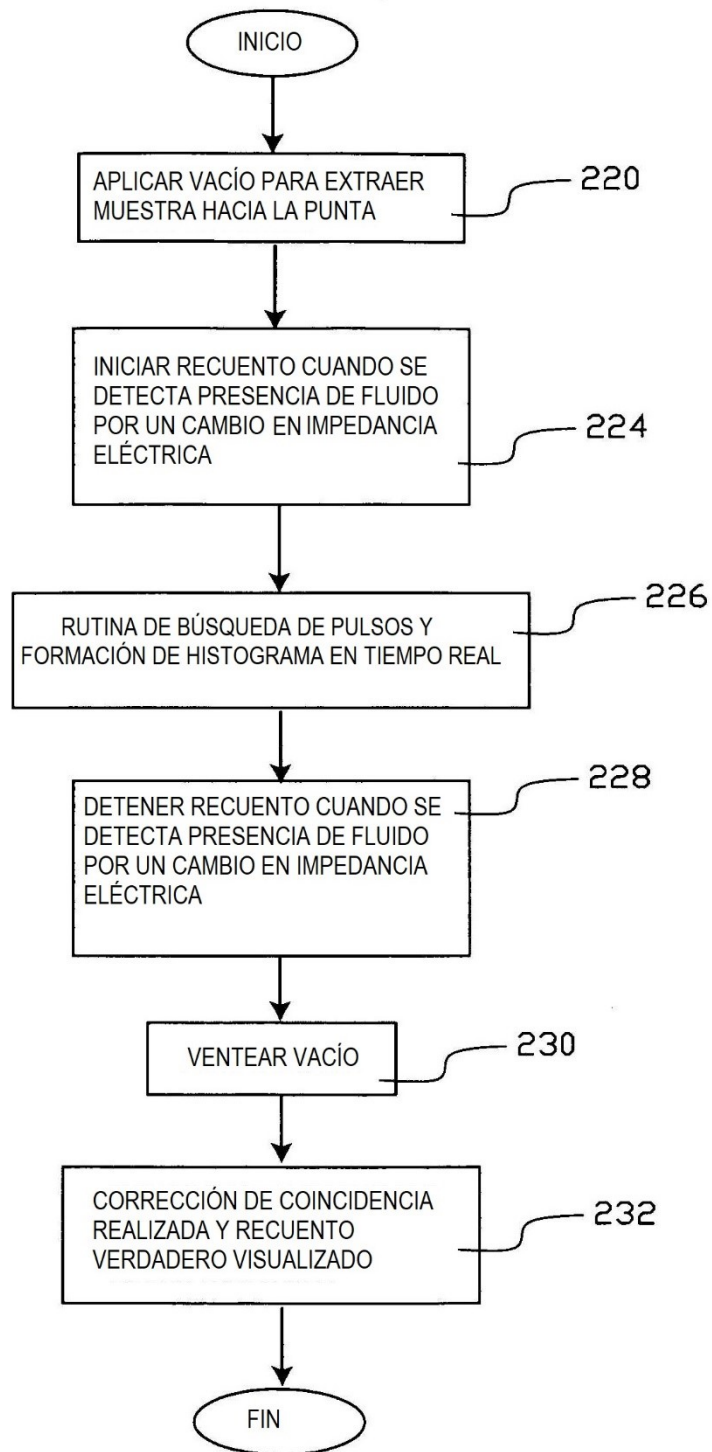


FIG. 13