



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 285 984**

51 Int. Cl.:

G01N 1/40 (2006.01)

G01N 33/487 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

G02B 21/34 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

G06K 9/00 (2006.01)

G01N 15/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **00117717 .9**

86 Fecha de presentación : **17.08.2000**

87 Número de publicación de la solicitud: **1079224**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **28.02.2001**

54

Título: **Procedimiento y dispositivo de separación de elementos formes a partir de una fase líquida de una muestra de un fluido biológico complejo.**

30

Prioridad: **20.08.1999 US 366881**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.12.2007

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.12.2007

73

Titular/es: **Stephen Clark Wardlaw
Highrock
Lyme, Connecticut 06371, US
Wardlaw Partners L.P. y
Robert Aaron Levine**

72

Inventor/es: **Wardlaw, Stephen C.**

74

Agente: **Isern Jara, Jaime**

ES 2 285 984 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

Procedimiento y dispositivo de separación de elementos formes a partir de una fase líquida de una muestra de un fluido biológico complejo.

Campo técnico

La presente invención se refiere a un dispositivo y a un procedimiento de separación de elementos formes a partir de una fase líquida de una muestra de un fluido biológico, a fin de facilitar la utilización de un instrumento óptico para examinar los elementos formes. Más particularmente, la presente invención se refiere a un dispositivo y a un procedimiento que tiene como resultado que los elementos formes se disponen en una superficie plana del dispositivo en el que dicha superficie plana conforma el plano focal del instrumento óptico.

Antecedentes

Los elementos formes de un fluido biológico complejo se aíslan habitualmente, o se separan, de una fase líquida de una muestra de tal modo que se permita el examen detallado de dichos elementos formes. La citometría de flujo constituye una técnica de identificación de elementos formes tales como los glóbulos sanguíneos de una muestra de sangre. Al utilizar dicha técnica, se pueden diferenciar entre sí diversos tipos de glóbulos sanguíneos y otros elementos formes de la sangre, y se puede realizar un recuento de los mismos. Al realizar dicho procedimiento, la muestra de sangre se ha de diluir antes de pasarse por el citómetro de flujo. Dicha técnica de citometría de flujo no permite que las células u otros elementos formes de una muestra de sangre se examinen en reposo. Dicha técnica no se puede utilizar eficazmente para detectar hechos infrecuentes en una muestra de sangre excepto si la muestra se somete a procedimientos de enriquecimiento tales como los procedimientos de enriquecimiento de perlas de partículas magnéticas del tipo propuesto por Dynel de Noruega.

Una segunda técnica de identificación y recuento de glóbulos sanguíneos y trombocitos de una muestra de sangre anticoagulada se describe en la patente US n° 4.027.660 y en otras patentes de Robert A. Levine y/o Stepehn C. Wardlaw. Dicha técnica utiliza un tubo capilar que presenta un inserto dispuesto en su interior. La muestra de sangre se mezcla con un tinte tal como el naranja de acridina y se centrifugó en el tubo capilar. Los glóbulos blancos y los trombocitos se depositaron en el tubo entre el inserto y la pared del tubo de modo que las capas de glóbulos blancos y de trombocitos se extienden en un factor de aproximadamente diez. La extensión de las capas de glóbulos y de plaquetas permite determinar la fórmula leucocitaria y la cifra de trombocitos del turbo determinando la distancia entre las interfaces opuestas de las capas celulares y transformar los resultados a cifras de células. Dicha segunda técnica tampoco permite el examen de glóbulos sanguíneos individuales de la muestra de sangre.

El documento EP 919 812 describe un procedimiento de análisis de una muestra de sangre anticoagulada en relación con la presencia o ausencia de células epiteliales irregulares y/o células precursoras hemáticas. El procedimiento implica disponer la muestra de sangre entera en un tubo de ensayo que comprende un inserto que ocupa un volumen suficiente del tubo de ensayo para formar un área anular bien definida en el tubo de ensayo entre el inserto y el tubo

en el que las células individuales se aislarán y se podrán examinar. El área bien definida del tubo de ensayo se examina con un aumento de por lo menos 100X por lo que se puede analizar la morfología de las células individuales de la misma. Se ha de señalar que dicho procedimiento requiere la centrifugación de la muestra de sangre en el tubo de ensayo antes de que se puedan examinar las células aisladas.

Se puede centrifugar una muestra de un fluido con una pluralidad de elementos para separar la fase líquida de la muestra de los elementos formes de la muestra. Dicha técnica es la utilizada más habitualmente en los análisis de orina. En una muestra de fluido biológico que comprende células u otras partículas, las partículas se depositarán gracias a la acción de la gravedad por separado de la fase líquida, y las células y las partículas se separarán también entre sí en función de su peso específico. Una vez se ha centrifugado la muestra, el líquido y las fracciones de los elementos formes de la muestra se separan entre sí, y uno o las otras se continúan analizando.

En el caso de un análisis de orina, una vez se ha finalizado la centrifugación, entre el 90 y 95% del líquido sobrenadante se decanta o se separa, y se vuelven a suspender las células y las partículas en una cantidad inferior del líquido restante y se disponen en un recipiente o en un portaobjetos para su examen. Se podrá apreciar que el examen de diversos tipos de células o partículas utilizando la técnica de centrifugación es lento y requiere una destreza considerable por parte del técnico. Dicha técnica asimismo no resulta precisa debido a la pérdida o a la destrucción de elementos de la muestra durante la centrifugación, y en el caso del análisis de orina, la imprecisión de las etapas de decantación y de resuspensión.

Los elementos formes se pueden separar también de una fase líquida biológica por filtración. Al utilizar dicha técnica, se hace fluir la muestra a través de un filtro con un tamaño de poro que evitará que determinados elementos formes atraviesen el mismo. De este modo, si se conoce el tamaño de un elemento forme seleccionado que se encuentra en la mezcla, se puede seleccionar el filtro apropiado para separar el elemento seleccionado de la muestra. Una vez los elementos formes se ven retenidos por el filtro, se pueden separar y cultivar, o seguir analizando. Los problemas que presenta dicha técnica comprenden el coste de los filtros diversos; la necesidad de conocer el tamaño de los elementos formes seleccionados; la instalación de conductos requeridos para hacer fluir la muestra a través del filtro; la posibilidad de obstruir el filtro.

Los elementos formes que se pueden aislar a partir de diluciones por centrifugación y/o filtración comprenden microbios en fluidos biológicos; los cilindros urinarios; las células somáticas y los glóbulos de los fluidos corporales distintos de la sangre; quistes; células de muestras citológicas obtenidas mediante frotación, aspiración o raspado, que se han dispuesto en un medio líquido; huevos y parásitos que se encuentran en muestras de heces; y células epiteliales cancerosas y células precursoras hemáticas de sangre anticoagulada.

Tal como se ha señalado anteriormente, todas las técnicas conocidas de separación de elementos formes a partir de una fase líquida de una muestra de un fluido biológico comprenden la centrifugación de la muestra o la filtración de la muestra. Se pretende proporcionar una técnica de separación de los elemen-

tos formes relativamente infrecuentes a partir de una fase líquida en una muestra de fluido biológico en reposo, funcionando dicha técnica sin movimientos, que resulte económica, que no requiera la utilización de equipos adjuntos costosos tales como centrífugas, conductos de fluidos y filtros, y que no requiera un grado elevado de destreza y experiencia para poder utilizarla.

El documento US 3 990 849 da a conocer un sistema de recipientes destinado a recoger elementos formes tales como células que se encuentran comprendidas en una muestra de fluido biológico acuoso tal como la sangre. Dicho sistema de recipientes presenta una cubeta y una capa de gel comprendida en dicha cubeta en la que la capa de gel presenta una superficie plana sobre la que se vierte la muestra. La capa de gel absorbe sustancialmente toda la fracción acuosa de la muestra del fluido a excepción de los elementos formes que permanecen en dicha superficie plana del gel.

El documento US 5 770 086 describe un procedimiento para concentrar una disolución en la que se utilizan hidrogeles expandibles para recoger elementos formes. Dichos hidrogeles absorben sustancialmente toda la fase acuosa de la muestra del fluido a excepción de los elementos formes.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento y a un dispositivo para utilizar en la separación de elementos formes a partir de una fase líquida de una muestra de un fluido acuoso. Las muestras de fluidos acuosos de interés comprenden: orina; líquido cefalorraquídeo; líquido pleural; ascitis; humores succinados de quistes, tales como quistes de tiroides o de mama; muestras citológicas que se han dispuesto en un fluido; suspensiones acuosas de muestras de heces; muestras de plasma con abundantes trombocitos, mezclas preparadas de cultivos microbianos acuosos, etcétera.

El dispositivo de la presente invención comprende un recipiente para las muestras que presenta una parte transparente destinada a la visualización de las muestras y que comprende una pared extensible plana, que se puede expandir en presencia de un medio acuoso. Dicha pared comprende un hidrogel cuando se expande al añadir disoluciones acuosas según la presente invención. El medio, antes de la expansión, puede comprender una cantidad de disolución acuosa inferior a la capacidad de equilibrio del medio permitiendo que el medio se hidrate y se expanda aún más, o el medio puede ser un xerogel, es decir, una estructura polimérica seca que, al absorber agua, se convierte en un hidrogel, hinchándose durante el proceso. En aras de la simplicidad, el término "hidrogel" tal como se utiliza en la presente solicitud, pretende comprender cualquier matriz polimérica estructurada que se hincha con agua a partir de un estado seco hasta un estado de equilibrio completamente hinchado. La pared de capas de hidrogel se dispone en la cara opuesta de la parte de visualización de la muestra. La capa de hidrogel presenta un espesor constante de modo que la superficie de la capa de hidrogel que se encuentra más próxima a la parte de visualización de la muestra del recipiente es plana. Cuando el dispositivo se utiliza para analizar una muestra, la cámara se llena con una cierta cantidad de la muestra a examinar, depositándose la muestra en la parte superior de capa de hidrogel. El recipiente para las muestras pre-

senta un volumen conocido, y el volumen de la capa del hidrogel absorbente de agua es tal que, cuando se encuentra completamente hidratado, absorberá esencialmente todo el agua de la muestra y llenará sustancialmente el recipiente para las muestras con el hidrogel.

Una vez que se ha añadido la muestra del fluido al recipiente, el hidrogel se expandirá hacia la parte de visualización de la muestra del recipiente hasta que el recipiente se llene sustancialmente completamente con el hidrogel expandido. La superficie del hidrogel expandido que se encuentra más próxima a la parte de visualización de la muestra del recipiente permanecerá plana mientras la capa de hidrogel se hincha. La fase acuosa de la muestra biológica se absorberá en el hidrogel provocando de este modo la expansión o el hinchamiento del hidrogel. A medida que el hidrogel se expande, cualquier elemento forme que se encuentre en la muestra se verá capturado en la superficie plana móvil del hidrogel y permanecerá en su lugar en dicha superficie del hidrogel mientras el hidrogel continúa expandiéndose. Cuando el hidrogel ha alcanzado su volumen expandido final, sustancialmente toda la fase líquida de la muestra se habrá absorbido en el hidrogel y todos los elementos formes de la muestra se habrán capturado en la superficie del hidrogel. Debido a que la superficie de captura del hidrogel permanece plana, y a que se presiona preferentemente contra la parte de visualización de la muestra del recipiente, los elementos formes capturados de la muestra se fijarán en la superficie plana que se puede realizar para que ocupe el plano focal de un instrumento que se utiliza para examinar los elementos formes capturados. Los diversos elementos formes que se encuentran en la muestra y que se capturan en la superficie del hidrogel rehidratado se pueden realizar de un modo diferenciador mediante sustancias específicas de análisis de modo que diversos elementos formes se puedan diferenciar entre sí. También se pueden teñir los elementos formes de modo que se pueda examinar su morfología en la superficie del hidrogel. Se puede realizar el recuento de diversos elementos formes realzados de un modo diferenciador. Debido a que se conoce el volumen de la muestra añadida al recipiente, se puede obtener la cifra de elementos formes por unidad de volumen de la muestra. El aislamiento y la concentración de elementos formes de la superficie del hidrogel permite asimismo recoger elementos formes específicos de la superficie del hidrogel para seguir analizando los elementos recogidos. El dispositivo de la presente invención se puede examinar mediante un instrumento de lectura óptica, tal como un microscopio o un instrumento de diferenciación óptica.

Constituye por lo tanto un objetivo de la presente invención proporcionar un procedimiento y un dispositivo para utilizar en la obtención de información que se refiere a los elementos formes comprendidos en una muestra de un fluido biológico en reposo.

Constituye un objetivo adicional de la presente invención proporcionar un procedimiento y un dispositivo del tipo descrito en el que los elementos formes de la muestra se capturen en la superficie plana de un hidrogel expandido dispuesto en un recipiente para muestras.

Constituye otro objetivo de la presente invención proporcionar un procedimiento y un dispositivo del tipo descrito en el que la fase líquida de la muestra

pueda expandir una capa de hidrogel absorbente de agua dispuesto en el recipiente para muestras.

Constituye un objetivo adicional de la presente invención proporcionar un procedimiento y un dispositivo del tipo descrito en el que la superficie plana del hidrogel expandido conforme un plano focal para un instrumento de examen óptico que se utiliza junto con el recipiente para muestras.

Breve descripción de los dibujos

Éstos y otros objetivos y ventajas de la presente invención se pondrán más claramente de manifiesto a partir de la siguiente descripción detallada de una forma de realización de la presente invención considerada en conjunto con los dibujos adjuntos en los que:

la Figura 1 es una vista esquemática en sección transversal de un recipiente para analizar muestras que comprende una cámara destinada a alojar las muestras que presenta un elemento de hidrogel absorbente de agua en una pared de la misma;

la Figura 2 es una vista esquemática en planta de un recipiente del tipo ilustrado en la Figura 1 en el que el recubrimiento de hidrogel se ha expandido hasta llenar sustancialmente la cámara;

la Figura 3 es una vista esquemática en planta del recipiente de las Figuras 1 y 2 ilustrando un conjunto de elementos formes de la muestra que se han capturado en la superficie superior del hidrogel expandido de la cámara; y

la Figura 4 es una imagen compuesta de un campo inicial de visión de la muestra en la cámara para muestras y una imagen posterior del mismo campo de visión de la muestra.

Descripción detallada de una forma de realización específica de la invención

Haciendo referencia ahora a los dibujos, la Figura 1 es una ilustración esquemática del recipiente para muestras que se indica de un modo general mediante la referencia numérica 2, comprendiendo dicho recipiente 2 una cámara 4 que se define mediante una pared lateral 6 y una pared inferior plana 8. Se dispone una capa de espesor constante de un hidrogel preferentemente transparente o translúcido 9 sobre la pared inferior 8 de la cámara 4. Un hidrogel apropiado comprende el gel "PHYTA", que es un hidrogel realizado de ácido glucurónico, ramnosa y glucosa. Es transparente e incoloro y, por lo tanto, un buen material para utilizar en la detección de elementos formes. Dicho hidrogel es un producto de Sigma Diagnostics.

Otros hidrogeles apropiados comprenden el óxido de polietileno; el poli(óxido de etileno y de propileno); la poli(povidona); el poli(alcohol vinílico); la poli(acrilamida); el poli(acetato de vinilo); el poli(ácido acrílico) [en forma Na⁺]; el poli(ácido acrílico y acrilimida) [en forma Na⁺]; el poli(ácido poliacrílico) [en forma Na⁺]; el poli(ácido metacrílico) [en forma Na⁺]; el poli(ácido metacrílico - co-acrilamida) [en forma Na⁺]; el poli(acrilonitrilo y acrilamida); el poli(hidroxietilacrilato); el poli(hidroximetilmetacrilato); y poli(uretanos) hidrófilos).

La superficie superior 10 de la capa de hidrogel 9 es plana, reproduciendo la pared inferior plana 8 de la cámara 4. El volumen de la capa de hidrogel 9 que se dispone en la cámara es tal que, cuando el hidrogel 9 absorbe el agua de una muestra que se ha introducido en la cámara 4, llenará sustancialmente la cámara 4 y absorberá esencialmente todo el agua de la muestra. La cámara 4 comprende una pared transparente 12, que puede presentar la forma de un cubreobjetos, que

proporciona una ventana a través de la que se puede observar la superficie superior 10 del gel 9. Se puede disponer previamente una pluralidad de elementos formes identificables 14 sobre la superficie del gel y utilizarla para permitir que el instrumento óptico 16 enfoque la superficie superior 10 del hidrogel 9 una vez que este último se ha expandido, tal como se ilustra en la Figura 2.

Los cuerpos formes 14 desempeñan tres funciones, la primera permitir el enfoque del instrumento óptico 16 en la superficie del hidrogel 10; la segunda confirmando la posición de la superficie 10 cuando el instrumento 16 no detecta otros elementos formes en la superficie. En este caso, el instrumento 16 registrará que la muestra que se está analizando no comprende elemento forme alguno. La tercera función de los cuerpos formes 14 es servir de registro óptico o de puntos de guía. Dicha función resulta útil cuando el análisis de la muestra que se está realizando requiere que se examine repetidamente una pluralidad de áreas de la cámara durante un período de tiempo. Debido a que la mayoría de los instrumentos de análisis no pueden realizar una relocalización exacta de un punto determinado de la superficie, pero sí una relocalización aproximada, se puede utilizar un mapa de las posiciones de los cuerpos preformados de cualquier campo para reajustar las imágenes posteriores del mismo campo de modo que se puedan realizar determinaciones comparativas sucesivas en dicho campo durante un período de tiempo.

La Figura 4 ilustra dicho reajuste de los cuerpos formes 14. Obsérvese que la Figura 4 ilustra un campo de visión particular en el que se encuentra un cierto número de elementos formes B. El campo de visión comprende asimismo tres de los cuerpos formes 14 que resulta que se disponen en una configuración triangular. Se realizará el tratamiento de las imágenes de dicho campo de visión mediante el instrumento de lectura, y la posición de las coordenadas X, Y de dicho campo de visión las registrará el instrumento. Suponiendo que el instrumento esté programado para volver a dicho campo de visión particular por algún motivo, se utilizarán las coordenadas X, Y registradas para volver al campo de visión en cuestión. Cuando vuelve al campo de visión en cuestión, no podrá reproducir exactamente las posiciones de los elementos formes B o las posiciones de los cuerpos formes 14, por lo que las posiciones de los cuerpos formes en el campo de visión reprocesado gráficamente pueden ser tal como se indican en vista transparente en la Figura 4, indicándose sus posiciones con la referencia numérica 14'. A continuación el instrumento compara las posiciones 14' del cuerpo forme reprocesado gráficamente con las posiciones 14 del cuerpo forme original y ajusta el campo de visión reprocesado gráficamente con el campo de visión original superponiendo las imágenes reprocesadas gráficamente de los cuerpos 14' con las posiciones de los cuerpos 14 originalmente procesadas gráficamente. De este modo, se pueden utilizar los cuerpos 14 y sus posiciones en un campo de visión para guiarse de nuevo hacia un campo idéntico de visión de la imagen. Se apreciará que los cuerpos formes 14 se distribuirán aleatoriamente por toda la muestra de modo que cualquier configuración de cuerpos formes 14 observada en un campo de visión particular será propia de dicho campo de visión. Un instrumento que se puede utilizar para examinar las muestras puede ser similar al instru-

mento ilustrado y descrito en la solicitud publicada WO 99 45 385.

La Figura 3 ilustra un conjunto de elementos formes que se pueden encontrar en una muestra de orina que se analiza según la presente invención. Los cuerpos enfocados 14 se ilustran en la Figura 3. Los elementos formes capturados tales como bacterias A; eritrocitos B; cilindros urinarios C y cristales D, por ejemplo, se pueden observar en la superficie 10 del hidrogel 9. Se apreciará que se puede realizar una tinción diferencial de algunos elementos individuales A, B, C o D, o resaltar de algún otro modo; se pueden utilizar en la muestra tinciones supravitales de modo que se pueda realizar el examen morfológico de determinados elementos; y se pueden separar los elementos individuales de la superficie del hidrogel para continuar examinándolos. Una vez se ha identificado un elemento con el instrumento 16, se conocerá la posición exacta del elemento y no cambiará, pudiéndose de este modo volver a localizar el elemento en cuestión.

Un modo de preparar la cámara para muestras para realizar el análisis de las muestras es el siguiente. Se puede llenar una cámara para muestras vacía con un hidrogel hidratado por lo menos en parte de modo que la superficie superior del hidrogel hidratado sea plana y sea coplanar con el plano de la superficie inferior de la cubierta 12 de la cámara. La cámara llenada de este modo se puede someter a continuación a un medio que provoque la evaporación del agua del hidrogel de modo que la capa de hidrogel de la cámara se encoga y desplace la superficie superior del hidrogel hacia abajo alejándose de la superficie inferior de la cubierta 12. A continuación se introduce en la cámara para muestras una alícuota de una muestra acuosa a analizar en relación con sus elementos formes sobre el hidrogel encogido, tras lo que se deja que este último se expanda de nuevo hasta alcanzar su volumen original mediante la absorción de agua de la muestra. La superficie superior del gel expandido de nuevo se ve de este modo empujada contra la cubierta 12 de modo que desplaza todos los elementos formes capturados de la muestra hasta un plano focal que coincide con la superficie inferior de la cubierta 12. Antes de añadir la muestra al gel encogido, se pueden disponer los cuerpos formes 14 en la superficie superior del gel encogido.

Otro procedimiento que se puede utilizar para producir las cámaras para muestras es el siguiente. Cuando se utilizan hidrogeles "blandos" (es decir, parcialmente hidratados) como absorbentes del agua, dichos geles blandos no se pueden deshidratar parcialmente *in situ* en la cámara para muestras. Se pueden preparar en el exterior de la cámara para muestras. Por ejemplo, se pueden cortar discos de gel a partir de una lámina de gel y disponer los discos de gel en la zona inferior de la cámara de modo que se adhieran a dicha zona inferior de la cámara. En cualquier caso, el gel ha de poder absorber esencialmente todo el agua de la muestra y no ha de poder levantar la cubierta 12 de la

cámara cuando se expanda el gel.

Se apreciará que el procedimiento y el dispositivo de la presente invención proporciona una técnica económica para examinar determinadas muestras de fluidos biológicos en relación con sus elementos formes. Los elementos formes distintos que se pueden encontrar en la muestra se pueden diferenciar entre sí, se pueden recoger del dispositivo y se puede realizar su recuento. Los elementos formes de la muestra se separan de la fase líquida de la muestra provocando que la fase líquida es absorbida por el hidrogel hidrófilo que no se encuentra en un estado de equilibrio acuoso de modo que se pueda continuar hidratando el hidrogel. Durante la hidratación posterior del hidrogel, e capturarán todos los elementos formes de la muestra sobre la superficie expandida del hidrogel.

Debido a que se pueden realizar muchos cambios y variaciones de la forma de realización de la presente invención que se ha descrito sin apartarse del concepto inventivo, no se pretende limitar la invención de ningún otro modo según lo dispuesto en las reivindicaciones adjuntas.

Los elementos formes de una muestra de material biológico fluido acuoso se separan de la fase acuosa de la muestra y se concentran en el plano focal del instrumento de examen mediante el que se pueden examinar ampliados. Los ejemplos de fluidos que se pueden analizar de este modo comprenden la orina; el líquido cefalorraquídeo; el líquido pleural; las ascitis; los humores succionados de quistes, tales como quistes de tiroides o de mama; las muestras citológicas que se han dispuesto en un fluido acuoso; las muestras de plasma con abundantes trombocitos; etcétera. La muestra se dispone en una cámara que presenta una capa de hidrogel hidrófilo que cubre una superficie de la cámara. La superficie opuesta de la cámara es transparente y se puede realizar con un cubreobjetos o un dispositivo similar. El volumen de hidrogel en la cámara resulta suficiente para que, cuando el hidrogel absorbe esencialmente toda la fase acuosa de la muestra, el hidrogel se expanda y llene la cámara. La superficie de captura del hidrogel expandido es preferentemente plana y todos los elementos formes de la muestra se capturarán en la superficie de captura de la capa de hidrogel y no serán absorbidos en el hidrogel. Los elementos formes, tales como; células; bacterias; cristales; protozoos; huevos y parásitos; y similares, se pueden realzar de un modo diferenciador mediante la utilización de anticuerpos marcados, tinciones selectivas o similares, de modo que se facilite el examen óptico y la diferenciación de los diversos elementos formes que se pueden encontrar en la muestra. Los elementos formes se pueden recoger de la superficie de captura de la capa de hidrogel expandido para un examen y análisis más detallados. La superficie de captura del hidrogel se puede proporcionar con una pluralidad de perlas utilizadas para localizar la superficie de captura con el instrumento de lectura óptica y para restablecer los campos de visión examinados previamente.

REIVINDICACIONES

1. Sistema de recipientes destinado a examinar elementos formes que se encuentran comprendidos en una muestra de fluido biológico acuoso, presentando dicho sistema de recipientes una cámara (4) con un volumen conocido, encontrándose dicha cámara (4) definida por una primera pared (8), unas paredes laterales (6) y una pared transparente de visualización de la muestra (12) que se dispone en la cara opuesta a dicha primera pared (8); una capa (9) de un hidrogel expandible que cubre dicha primera pared (8) de la cámara, presentando dicha capa de hidrogel expandible (9) una superficie plana enfrentada a dicha pared de visualización de la muestra (12) de dicha cámara (4), encontrándose presente dicha capa de hidrogel expandible (9) en una cantidad que puede provocar que dicho hidrogel llene esencialmente dicha cámara (4) y capture todos los elementos formes de la muestra en dicha superficie plana del hidrogel cuando dicha capa de hidrogel (9) se expande debido a la absorción de esencialmente toda la fase acuosa de la muestra del fluido y a la exclusión de los elementos formes de la muestra.

2. Sistema de recipientes según la reivindicación 1, en el que dicha primera pared (8) de la cámara es plana.

3. Sistema de recipientes según la reivindicación 1, que comprende además unos cuerpos ópticamente detectables dispuestos en dicha superficie plana de dicha capa de hidrogel (9), permitiendo dichos cuerpos ópticos localizar dicha superficie plana de dicha capa de hidrogel (9) una vez que dicha capa de hidrogel (9) se ha expandido en dicha cámara (4).

4. Sistema de recipientes según la reivindicación 1, en el que existen por lo menos tres cuerpos ópticamente detectables en dicha superficie plana de dicha superficie de hidrogel.

5. Procedimiento para examinar las características de por lo menos un elemento forme que se encuentra comprendido en una muestra de fluido biológico acuoso, comprendiendo dicho procedimiento:

a) la etapa de proporcionar un sistema de recipientes

según las reivindicaciones 1 a 4.

b) la etapa de introducir la muestra de fluido en dicha cámara (4) en dicha capa de hidrogel (9), y permitiendo que la fase líquida de dicha muestra de fluido sea absorbida por y expanda dicha capa de hidrogel (9), al mismo tiempo que captura los elementos formes de dicha muestra de fluida en la superficie de dicha capa de hidrogel (9) que se expande en dicha cámara (4), y

c) examinar por lo menos uno de los elementos formes que se encuentran capturados en la superficie de la capa de hidrogel (9) expandida en la cámara (4).

6. Procedimiento según la reivindicación 5, en el que dicha superficie de dicha capa de hidrogel (9) es plana y permanece plana mientras se expande dicha capa de hidrogel (9).

7. Procedimiento según la reivindicación 6, en el que dicha superficie plana comprende unos cuerpos ópticamente distinguibles dispuestos en la misma que permiten la confirmación de la posición de dicha superficie plana una vez dicha capa de hidrogel (9) se ha expandido.

8. Procedimiento según la reivindicación 5, que comprende:

a) la etapa de expandir dicha capa de hidrogel (9) de modo que desplace dicha superficie plana de dicha capa de hidrogel (9) hasta una posición final en dicha cámara (4); y

b) la etapa de disponer los elementos formes distinguibles de enfoque en dicha cámara (4), cuyos elementos son coplanares con dicha posición final de dicha superficie plana de modo que un instrumento óptico puede enfocar dichos elementos y de este modo localizar la posición de dicha disposición final de dicha superficie plana del hidrogel en la cámara (4).

9. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que dichos elementos de enfoque se disponen en dicha superficie plana de dicho hidrogel antes de la expansión de dicho hidrogel, y en la que dichos elementos de enfoque se transportan hasta dicha posición final de dicha superficie plana al expandirse dicho hidrogel.

45

50

55

60

65

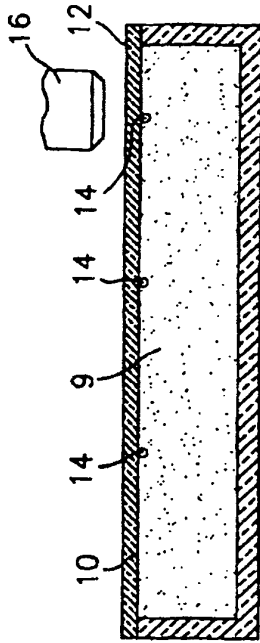


FIG. 2

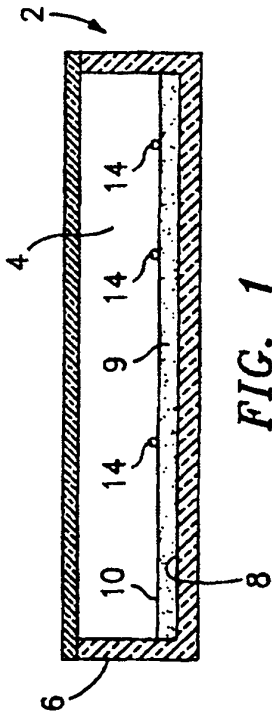


FIG. 1

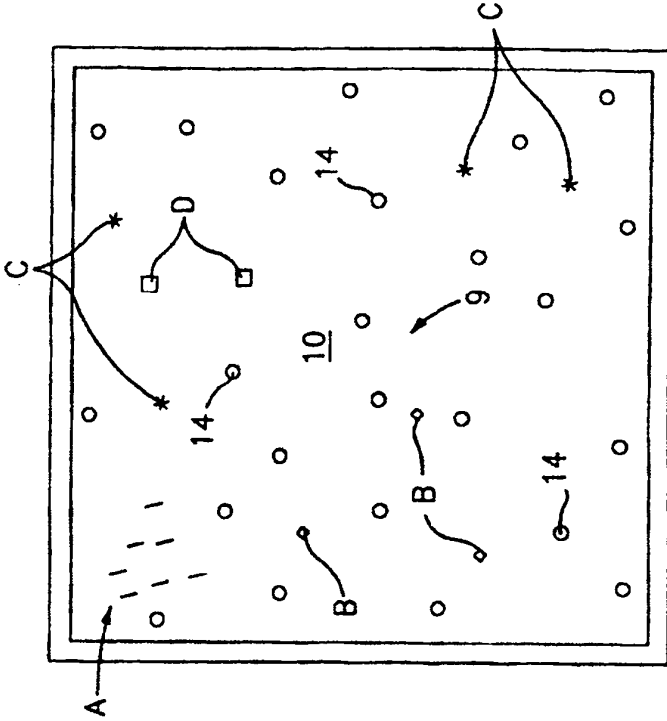


FIG. 3

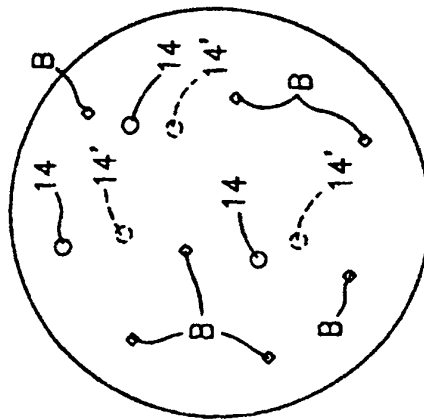


FIG. 4