



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 313 716**

(51) Int. Cl.:  
**G01N 21/76** (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **94925843 .8**

(96) Fecha de presentación : **15.08.1994**

(97) Número de publicación de la solicitud: **0783681**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **16.07.1997**

(54) Título: **Aparato y método para llevar a cabo medidas de ensayos de electroquimioluminiscencia.**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.03.2009**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.03.2009**

(73) Titular/es: **BioVeris Corporation**  
**16020 Industrial Drive**  
**Gaithersburg, Maryland 20877, US**

(72) Inventor/es: **Ghaed, Ali;**  
**Leland, Jonathan, K.;**  
**Zoski, Glenn, D.;**  
**Goodman, Jack, E. y**  
**Grosser, John, T.**

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 313 716 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

Aparato y método para llevar a cabo medidas de ensayos de electroquimioluminiscencia.

## 5 Antecedentes de la invención

Esta solicitud se refiere, en general, a aparatos y métodos para detectar la presencia de analitos de interés, y/o determinar su cantidad, por inducción y detección de electroquimioluminiscencia en una muestra de prueba.

10 Numerosos métodos y sistemas han sido desarrollados para la detección y cuantificación de analitos de interés en sustancias bioquímicas y biológicas. Los métodos y sistemas capaces de medir cantidades en trazas de microorganismos, fármacos, hormonas, virus, anticuerpos, ácidos nucleicos y otras proteínas suponen una ayuda sustancial para investigadores y clínicos.

15 Se han usado técnicas de ensayos de quimioluminiscencia por las que una muestra que contenga un analito de interés se mezcla con un reactivo marcado mediante un marcador quimioluminiscente. La mezcla de reactivo es incubada y parte del reactivo marcado se une con el analito. Después de la incubación se separan las fracciones unida y no unida de la mezcla y puede determinarse la concentración del marcador en una o ambas fracciones mediante técnicas de quimioluminiscencia. El nivel de quimioluminiscencia determinado en una o ambas fracciones indica la cantidad  
20 del analito de interés en la muestra. Las técnicas de ensayos de electroquimioluminiscencia (EQL) ofrecen mejoras en relación con las técnicas de quimioluminiscencia. Permiten una medición sensible y precisa de la presencia y la concentración de un analito de interés. De acuerdo con las técnicas de EQL, la muestra incubada es expuesta a un electrodo de trabajo voltamétrico con el fin de activar la luminiscencia. En el entorno químico apropiado, tal electroquimioluminiscencia es activada merced a una tensión aplicada al electrodo de trabajo en un momento determinado  
25 y de manera determinada. La luz generada mediante un marcador electroquimioluminiscente se mide con el fin de ofrecer una indicación de la presencia del analito o con el fin de efectuar su medición.

El documento US-A-5.061.445 describe un aparato para realizar mediciones de fenómenos electroquimioluminiscentes (EQL) que incluye una unidad de celda con una configuración de electrodo para inducir la emisión de luz por  
30 EQL mediante la aplicación de una forma de onda de tensión seleccionada a un fluido de muestra que incluya una porción EQL. El fluido de muestra es transferido a/desde la unidad de celda mediante un sistema de flujo/tubería. Un tubo fotomultiplicador detecta la intensidad de la luz emitida por el fluido de muestra durante el proceso de medición de EQL. Una unidad de control por ordenador analiza los datos detectados y alimenta señales de control digitales a la unidad de celda, con el fin de generar formas de onda de tensión eficaz. Las señales de control digital son alimentadas  
35 a un convertidor digital/analógico modulado por anchura de impulsos, que emite una onda de tensión en rampa con la pendiente deseada.

Aunque se han desarrollado técnicas de EQL para uso en el laboratorio, hay necesidad de un instrumento de EQL práctico que permita realizar múltiples ensayos de manera eficaz y reproducible.

40 Un objeto de la presente invención consiste en ofrecer un aparato mejorado para realizar mediciones de pruebas de electroquimioluminiscencia.

Otro objeto de la invención consiste en ofrecer un aparato de este tipo versátil y fácil de usar.

45 Otro objeto de la invención consiste en ofrecer un aparato de pruebas de electroquimioluminiscencia que permita resultados de pruebas de EQL reproducibles y precisos.

Todavía otro objeto de la presente invención consiste en ofrecer un aparato para pruebas de electroquimioluminiscencia que funcione de manera eficaz.

50 De acuerdo con un aspecto de la presente invención se proporciona un aparato, definido mediante la reivindicación 1 de la presente memoria. Las particularidades preferidas del aparato se definen mediante las reivindicaciones dependientes.

55 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para realizar mediciones de pruebas de electroquimioluminiscencia, definido mediante la última reivindicación de la presente memoria.

60 Lo que antecede, y otros objetos, características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la lectura de la descripción detallada que sigue de ciertas realizaciones ilustrativas de la misma, junto con los dibujos adjuntos, que forman parte de este documento, y en los que partes y componentes similares se identifican mediante los mismos números de referencia en las distintas vistas de los dibujos.

## Breve descripción de los dibujos

65 La figura 1 es un diagrama de bloques de una realización de un aparato de pruebas de electroquimioluminiscencia automatizado, de acuerdo con la presente invención;

## ES 2 313 716 T3

la figura 2 es una vista, en perspectiva exterior, del aparato de pruebas de electroquimioluminiscencia de la realización de la figura 1;

la figura 3 es una vista en planta, desde arriba, arrancada parcialmente, de un carrusel porta-muestras de la realización de las figuras 1 y 2;

la figura 4 es una vista, en sección transversal, del carrusel porta-muestras de la figura 3, tomada por la línea 4-4 de la misma;

la figura 5 es una vista, en sección transversal, del carrusel porta-muestras de las figuras 3 y 4, tomada por la línea 5-5 de la figura 4;

la figura 6 es una vista, en alzado lateral, de un sistema de motor para accionar a rotación el carrusel porta-muestras de las figuras 3-5;

la figura 7 es una vista en planta, desde arriba, de un mecanismo para asegurar, de forma amovible, el carrusel porta-muestras de las figuras 3-5 contra su rotación;

la figura 8 es una vista, en sección transversal, tomada por la línea 8-8 de la figura 7;

la figura 9 es un diagrama de bloques de un sistema de detección de tubos de muestra destinado a detectar la presencia de un tubo de muestra en una posición de soporte de tubo de muestra predeterminada del carrusel de las figuras 3-5;

la figura 10 es un diagrama esquemático de un sistema de manipulación de fluidos de la realización de la figura 1, conectado operativamente con un sistema de calentamiento de fluido de muestra y su celda de flujo, destinado a alimentarla con fluidos y hacerlos salir de ella;

la figura 11 es una vista en alzado, en sección transversal parcial, de un dispositivo de pipeteado de muestra en combinación con un bloque de válvulas que forma parte del sistema de manipulación de fluidos de la figura 10;

la figura 12 es una vista en perspectiva, arrancada parcialmente, de un alojamiento de celda de flujo y ciertos componentes relacionados estructuralmente de la realización de la figura 1;

la figura 13 es un diagrama de bloques de un sistema de calentamiento de fluidos de muestra de la realización de la figura 1;

la figura 14 es un diagrama de bloques de un sistema de control de temperatura del alojamiento de celda de flujo de la figura 12;

la figura 15 es una vista, en sección transversal, tomada por la línea 15-15 de la figura 12;

la figura 16 es una vista, en perspectiva, de la celda de flujo de la realización de la figura 1;

la figura 17 es una vista, en sección transversal, tomada por la línea 17-17 de la figura 16;

la figura 18 es una vista, en sección transversal, tomada por la línea 18-18 de la figura 17;

las figuras 19A a 19C proporcionan, conjuntamente, un diagrama de bloques de un sistema de control y tratamiento de señales/datos de la realización de la figura 1;

la figura 20 es un diagrama de bloques funcional de lógica usado para controlar el funcionamiento de una unidad de tratamiento central del sistema de control y tratamiento de señales/datos de las figuras 19A a 19C;

las figuras 21A y 21B, conjuntamente, proporcionan un diagrama de flujo de un bucle de tratamiento principal de un programa de control de ensayos ilustrativo introducido en el sistema de las figuras 19A a 19C;

las figuras 22A y 22B, conjuntamente, proporcionan un diagrama de flujo de una sub-rutina de limpieza del sistema activada por el bucle de tratamiento principal de las figuras 21A y 21B;

las figuras 23A y 23B, conjuntamente, proporcionan un diagrama de flujo de una sub-rutina de muestreo de tubo activada por el bucle principal de las figuras 21A y 21B;

la figura 24 es un diagrama de flujo de una sub-rutina de transferencia de fluido de celda de flujo activada por el bucle principal de las figuras 21A y 21B; y

la figura 25 es un diagrama de flujo de una sub-rutina de medición de EQL activada por el bucle principal de las figuras 21A y 21B.

**Descripción detallada de algunas realizaciones ventajosas**

La figura 1 de los dibujos muestra, en general, mediante un formato de bloques, un aparato usado para realizar mediciones de pruebas de electroquimioluminiscencia de acuerdo con una realización de la presente invención.

Una celda de flujo 50 está destinada a aplicar energía eléctrica a una muestra de fluido electroquimioluminiscente en un entorno electroquímico controlado, reproducible, con el fin de generar electroquimioluminiscencia que permita la detección y/o la cuantificación de un analito asociado con un marcador EQL. Hay un detector 60 de luz dispuesto cerca de la celda de flujo para recibir luz 62 emitida por la muestra de fluido EQL. El detector 60 de luz genera una señal eléctrica que representa la cantidad de luz recibida por él, que, una vez tratada, ofrece una medición altamente precisa de la cantidad de material EQL de la muestra. Ventajosamente, el detector 60 de luz de la realización de la figura 1 emplea un tubo fotomultiplicador para generar la señal eléctrica, aunque pueden emplearse otros dispositivos de detección.

Hasta ahora no se habían apreciado la sensibilidad sustancial a la temperatura del proceso de electroquimioluminiscencia de una muestra a prueba, así como el carácter no lineal de tal dependencia de la temperatura. De acuerdo con un aspecto, la presente invención permite compensar el efecto de la temperatura, al menos, merced al ajuste de la temperatura de la muestra de fluido electroquimioluminiscente a un valor, al menos, dentro de un intervalo predeterminado de valores de temperatura, o bien, merced al ajuste de una señal de salida de luz que represente la luz emitida por electroquimioluminiscencia basándose en la temperatura de la muestra de fluido electroquimioluminiscente, con el fin de proporcionar una señal ajustada de acuerdo con el efecto de temperatura. La realización de la figura 1 permite ajustar la temperatura de la muestra de fluido electroquimioluminiscente y ajustar los valores medidos de la luz basándose en la temperatura real de la muestra de fluido electroquimioluminiscente en la celda de flujo 50. Los fluidos de muestra alimentados a la celda de flujo 50 (así como los fluidos de limpieza y acondicionamiento, como se explicará con más detalle en lo que sigue), se someten a un control de temperatura, para, al menos, ponerlos a temperaturas que se encuentren dentro de un intervalo de temperatura predeterminado antes de la realización de la prueba de EQL en la celda de flujo. Para este fin, están previstos un sistema 70 de calentamiento de fluido de muestra y un sistema 80 de control de temperatura de celda de flujo.

Un sistema 90 de manipulación de fluidos permite, en general, alimentar fluidos útiles para la realización de pruebas de EQL en la celda de flujo. Tales fluidos incluyen fluidos de limpieza, tampones de ensayo y aire, así como fluido de muestra de prueba y fluidos de muestra de calibrado. El sistema 90 de manipulación de fluidos recibe fluidos de limpieza, tampones de ensayo y aire a través de conductos de entrada 100, 101 y 102 respectivos, y recibe los fluidos de muestra de prueba y calibrado de los recipientes de tubo dispuestos por un usuario en un carrusel porta-muestras del sistema 90 de manipulación de fluidos, descrito con más detalle en lo que sigue.

El control global de las operaciones llevadas a cabo mediante la celda de flujo 50, el detector 60 de luz, los sistemas 70 y 80 de control de temperatura y el sistema 90 de manipulación de fluidos, se ejerce mediante un sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos a través de circuitos de control que conectan cada uno de estos sistemas y dispositivos con él. El sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos, también, recibe señales analógicas o digitales, o de ambos tipos, a través de circuitos de señales, desde cada uno de estos sistemas y dispositivos, para su tratamiento, con el fin de facilitar el ejercicio de sus funciones de control así como para generar datos de resultados de pruebas a transmitir por el aparato a través de una puerta de entrada/salida 120 en serie del sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos. Además, el sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos puede recibir programas a través de la puerta de entrada/salida 120 en serie y almacenarlos con el fin de realizar ensayos de EQL programados, controlados externamente. Típicamente, tales programas recibidos se cargan mediante un ordenador personal (PC) en comunicación con el aparato, a través de la puerta de entrada/salida 120 en serie. En ese caso, un usuario selecciona o genera los programas deseados mediante el PC, de modo que el aparato de la figura 1 ofrece una versatilidad sustancial en la realización de pruebas de EQL.

El sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos, también, realiza la compensación de temperatura de resultados de pruebas basándose en datos de temperatura de la celda de flujo 50, con el fin de compensar cualquier error entre la temperatura real de la muestra y una temperatura de prueba nominal predeterminada.

En la figura 2 se muestra una vista, en perspectiva exterior, del aparato de la figura 1, en la que pueden verse ciertos elementos del sistema 90 de manipulación de fluidos de la figura 1. Como se muestra, el aparato incluye un alojamiento exterior 130 en el que están alojados todos los elementos de la realización de la figura 1, con la excepción de ciertos componentes del sistema 90 de manipulación de fluidos. Como se ha mencionado anteriormente, el sistema 90 de manipulación de fluidos incluye un carrusel porta-muestras, identificado en la figura 2 mediante la referencia 140, destinado a soportar, de modo amovible, una pluralidad de tubos 142 de contención de fluido de muestra y fluido de calibrado, cada uno en una posición respectiva de una pluralidad de posiciones de soporte de muestra, separadas horizontalmente y previstas con un patrón circular junto a la periferia del carrusel porta-muestras 140. El carrusel 140 puede girar en torno a un eje vertical, con el fin de situar cada una de las posiciones de soporte de tubo, de acuerdo con una secuencia predeterminada, en una posición de pipeteado predeterminada, en la que el contenido de fluido de un tubo de contención 142 respectivo pueda ser aspirado mediante un dispositivo de pipeteado indicado, en general, mediante la referencia 150 en la figura 2, y que se describirá con más detalle en lo que sigue.

*Carrusel porta-muestras*

El carrusel porta-muestras 140 se describirá ahora con detalle en relación con las figuras 3-5. La relación estructural de los distintos elementos del carrusel 140 se muestra en la vista, en sección transversal, de la figura 4. Como puede verse, el carrusel 140 incluye un miembro de base giratorio 160 en forma de placa de base que se extiende horizontalmente con una periferia generalmente circular provista de una pluralidad de dientes de engranaje 162, que pueden verse, también, en la figura 3. Los dientes de engranaje 162 proporcionan un medio para accionar a rotación el miembro de base 160, junto con elementos adicionales del carrusel porta-muestras 140 montado en él, como se describirá en lo que sigue. El miembro de base 160 está montado, a rotación, en un miembro 170 de soporte de base por medio de un apoyo 172. El soporte lateral de rotación del miembro de base 160 es proporcionado por una pluralidad de apoyos de bola 180 mantenidos en una pista definida por ranuras respectivas en el miembro de base 160 giratorio y en el miembro 170 de soporte de base.

Una primera placa circular 190, que se extiende horizontalmente, del carrusel 140 está separada verticalmente del miembro de base giratorio 160 y fijada en él mediante una pluralidad de separadores 200 dispuestos verticalmente, fijados mediante sujetadores de tornillo en el miembro de base giratorio 160 y la primera placa circular 190. Una segunda placa circular 210, que se extiende horizontalmente, prevista paralelamente al miembro de base giratorio 160 y a la primera placa circular 190 y separada verticalmente de ellos, está acoplada, de modo movable, con la primera placa circular 190 mediante una pluralidad de conjuntos amortiguadores 220. Cada uno de los conjuntos amortiguadores 220 incluye un primer miembro flexible 222 fijado en la primera placa circular 190 mediante un sujetador de tornillo, un separador cilíndrico 224 dispuesto verticalmente, fijado en el primer miembro flexible 222 y que se extiende hacia abajo desde él, y un segundo miembro flexible 226 fijado en el extremo inferior del separador 224, y fijado mediante un sujetador de tornillo en la segunda placa circular 210. Los conjuntos amortiguadores 220 permiten el movimiento horizontal de la segunda placa circular 210 en relación con la primera placa circular 190 en repuesta a una fuerza ejercida horizontalmente en la segunda placa circular 210, mientras que, en ausencia de tal fuerza, devuelven la segunda placa circular 210 a una posición, en general, alineada verticalmente con la posición de la primera placa circular 190.

De acuerdo con un método de ensayo de EQL ilustrativo, una muestra se mezcla con un reactivo adecuado que contenga una porción EQL para que se una con el analito de interés, si existe, o para hacer que se produzca una reacción de unión competitiva. En ciertos ensayos, el resultado de la reacción consiste en la formación de material en partículas con el que la porción EQL está unida. Pero lo anterior no es una explicación exhaustiva de todos los tipos de métodos de ensayo de EQL.

Una vez que la reacción de unión haya tenido lugar, la muestra de reacción, en un tubo de contención 142, se dispone en una posición de soporte respectiva del carrusel 140. Para este fin, la primera placa circular 190 y la segunda placa circular 210 están dotadas, cada una, de una pluralidad de paredes circulares interiores 230 y 232 separadas horizontalmente, previstas, respectivamente, con un patrón circular junto a la periferia horizontal exterior de la primera y la segunda placas 190 y 210. Cuando la segunda placa circular 210 se encuentre en reposo (es decir, en ausencia de fuerza horizontal aplicada en ella), cada una de las paredes circulares interiores 232 de la segunda placa circular 210 está alineada, verticalmente, con la pared respectiva de las paredes circulares interiores 230 de la primera placa circular.

Como muestra la figura 4, cada uno de los tubos de contención 142 incluye un labio superior 240 que define una boca del tubo de contención 142 y una parte de cuerpo 242 que se extiende hacia abajo desde el labio 240 hasta un extremo inferior cerrado. Las paredes circulares interiores 230 y 232 de la primera y la segunda placas circulares 190 y 210 están dimensionadas, cada una, de manera que puedan recibir el cuerpo 242 de un tubo de contención 142 respectivo, y aplicarse con él, en posiciones respectivas a lo largo de ellas, de modo que la pared interior 230 de la primera placa circular 190 se aplique con el cuerpo 242 del tubo de contención 142 en una posición que se encuentre entre la boca definida por el labio 240 y la posición en la que la pared circular interior 232 de la placa 210 se aplica con el cuerpo 242.

Después de la reacción de unión las muestras de fluido en los tubos de contención 142 pueden contener material en partículas que incluyan el analito de interés unido con un marcador EQL. Como parte del fluido de muestra, cuando sea aspirado mediante el dispositivo de pipeteado 150 de la figura 2, contendrá cierta concentración del material en partículas representativo de la muestra global, es deseable agitar el fluido de muestra contenido en cada uno de los tubos 142 antes de que el dispositivo de pipeteado 150 aspire el fluido de muestra, o al mismo tiempo. Aun cuando el fluido de muestra no contenga material en partículas, es deseable agitar el fluido de muestra antes del pipeteado, o durante el mismo, con el fin de garantizar una temperatura uniforme en todo el fluido de muestra, así como una composición uniforme del mismo.

Para este fin, hay previsto un sistema de motor en el carrusel 140 destinado a aplicar fuerza horizontal en la segunda placa 210 para que ésta se mueva horizontalmente y agite la parte inferior de cada uno de los tubos 142 de muestra cuando, cada uno, esté aplicado, junto a su extremo inferior, con una pared circular interior 232 respectiva de la placa 210, de manera que el tubo se mueva con ella. Se apreciará que, como el cuerpo 242 del tubo 142 está aplicado, junto al labio 240, con la primera placa circular, que permanece estacionaria en relación con el miembro de base giratorio 160, el labio 240 sigue, sustancialmente, en posición estacionaria cuando la parte inferior del cuerpo 242 sea agitada. En consecuencia, es posible introducir el dispositivo de pipeteado 150 en el tubo 142 de modo

## ES 2 313 716 T3

fiable y retirar parte de la muestra de fluido mientras el tubo sea agitado. Además, como solamente se agita parte del carrusel 140 (principalmente, la segunda placa circular 210), esta función del aparato se realiza de modo relativamente eficaz.

5 La fuerza para mover la placa circular inferior 210 se consigue mediante un motor 250 situado en un alojamiento de motor, que incluye un miembro inferior 252, fijado mediante un sujetador de tornillo en una tercera placa circular 260, fijada, a su vez, en un miembro superior 270 del alojamiento del motor. La primera placa circular 190 y un mango 280 que se extiende hacia arriba están fijados en el miembro superior 270 mediante un sujetador de tornillo. El mango 280 está dotado de una pared interior 282 de forma generalmente troncocónica, en cuya superficie inferior un conector eléctrico 284 está fijado en el motor 250 y acoplado eléctricamente con él, para alimentarle.

10 Como se muestra en la figura 2, la clavija 284 está conectada con un cable eléctrico 290 acoplado con una fuente de alimentación del aparato, dentro del alojamiento exterior 130, para activar de modo controlable el motor 250. La configuración de la clavija 284 permite a ésta girar en relación con el cable 290. El motor 250 presenta un árbol 300 de motor acoplado con un contrapeso 310 semicircular. El árbol 300 está acoplado, también, con un segundo árbol 320 cuyo eje geométrico está desplazado en relación con el eje geométrico del árbol 300 del motor y soportado, a rotación, en un apoyo 330 fijado en la segunda placa circular 210 (véase, también, la figura 5). En consecuencia, cuando el árbol del motor 250 gire, el árbol desplazado 320 girará también mientras describe un movimiento de traslación circular en torno al eje del árbol 300 del motor. Como el árbol desplazado 320 está soportado, a rotación, en el apoyo 320 fijado en la segunda placa 210, la segunda placa 210 se moverá con el eje del árbol desplazado 320 de modo que la placa 210, igualmente, se moverá en relación con la primera placa 190 en contra de la fuerza ejercida por los conjuntos amortiguadores 220, que tienden a devolver la segunda placa 210 a su posición de reposo en relación con la primera placa 190. En consecuencia, la parte inferior de cada uno de los tubos de contención 142, aplicada con la pared circular interior 232 respectiva de la segunda placa 210, se moverá igualmente con la placa 210 con el fin de agitar el contenido de fluido de cada uno de los tubos 142. El contrapeso semicircular 310 equilibra el sistema para evitar que éste vibre de modo excesivo.

15 La tercera placa circular 260 está provista de una pluralidad de paredes circulares interiores 340, cada una de las cuales está alineada con una pared respectiva de las paredes circulares interiores 230 de la primera placa circular 190, dimensionadas para poder recibir el cuerpo de los tubos 142 respectivos. El carrusel 140 incluye, también, una pared cilíndrica 350 que se extiende completamente en torno al miembro inferior 252 del alojamiento del motor, separada de las posiciones de los tubos de contención 142, relativamente cerca de ellas, por el interior de las mismas. La superficie exterior de la pared cilíndrica 350 presenta un acabado negro, plano, con el fin de conseguir propiedades ópticas deseadas, como se explicará en lo que sigue.

20 La figura 6 muestra un conjunto de motor 360 destinado a accionar a rotación el miembro de base giratorio 160 del carrusel 140, estando montado el conjunto de motor 360 en una placa de base 362 independiente del carrusel 140. Es decir, el carrusel 140 está soportado por su miembro de base 170, independientemente de la placa de base 362.

25 El conjunto de motor 360 incluye, también, un engranaje 370, mostrado arrancado parcialmente, montado a rotación en un apoyo 376 montado en un brazo loco 380, que, a su vez, está montado en la placa de base 362. Cuando el carrusel 140 esté puesto en posición adyacente al aparato de la figura 1, los dientes de engranaje 370 están aplicados con los dientes de engranaje 162 del miembro de base giratorio 160 del carrusel 140.

30 El conjunto de motor 360 incluye, también, un motor 390 montado en un brazo 392 de motor, que, a su vez, está montado, a rotación, en un árbol 396. El motor 390 presenta un árbol 400 giratorio en el que está previsto un engranaje 402 de motor. El brazo 392 de motor está cargado mediante un muelle (no mostrado, por motivos de simplicidad y claridad) para hacer que el engranaje 402 de motor se aplique con el engranaje 370. De acuerdo con otras realizaciones, el engranaje 370 y los dientes de engranaje 162 del miembro de base 160 (figuras 4 y 5) pueden reemplazarse por un accionamiento por correa o por fricción adecuado.

35 En las figuras 7 y 8 se muestra un mecanismo destinado a retener, de modo amovible, el miembro de base giratorio 160, y, por tanto, los tubos de contención soportados en él, de manera que no pueda girar mientras se aspiren fluidos de los tubos mediante el dispositivo de pipeteado 150. El mecanismo de retención incluye una placa de base 410 en la que una palanca 420 está montada a rotación en un plano horizontal, en torno a un pivote 422. Hay un fiador 430, montado en un portador deslizante 440, susceptible de girar en torno a un pivote 442, en un plano vertical. El fiador 430 presenta un extremo de enganche 446 opuesto a un segundo extremo del mismo en el que está formada una superficie de leva 450. La palanca 420 presenta una superficie de leva correspondiente destinada a aplicarse con la superficie de leva 450 de la palanca 420, de modo que cuando la palanca 420 sea hecha girar en dirección al extremo de enganche 446 del fiador 430, el extremo 446 de enganche sea hecho subir y liberar el miembro de base giratorio 160 del carrusel 140, para permitir así su rotación. El extremo de enganche 446 del fiador 430 es apretado hacia abajo mediante un muelle helicoidal 460 posicionado entre la placa de base 410 y una parte del fiador 430 del lado del pivote 422 opuesto al extremo de enganche 446. En consecuencia, cuando la palanca 420 sea hecha girar de manera que se aleje del fiador 430, el extremo de enganche 446 de éste es forzado hacia abajo por el muelle helicoidal 460, para que se aplique con el miembro de base giratorio 160 del carrusel porta-muestras, y lo retenga, con el fin de impedir su rotación. La posición del portador deslizante 440, y, por tanto, la posición del fiador 430 en relación con la placa de base 410, puede ajustarse merced a un tornillo prisionero 464. La rotación de la palanca 420 puede activarse mediante un accionador lineal (no mostrado por motivos de simplicidad y claridad), mediante el control del sistema 110, ventajosamente, para

mantener el carrusel en estado estacionario o permitirle girar de manera que presente una nueva posición de soporte de tubo al dispositivo de pipeteado 150.

#### *Detector de presencia de tubo*

En la figura 3 se muestra una muesca 470 de posición de partida formada en una posición de rotación predeterminada de la primera placa circular 190, de manera que pueda determinarse la posición de rotación del carrusel 140. En la figura 9 puede verse que el aparato está dotado de un interruptor óptico 472 que genera una señal de salida que indica al sistema 110 de la figura 1 cuándo la muesca 470 de posición de partida esté alineada con dicho interruptor. En ese caso, el aparato ha determinado la posición de rotación absoluta del carrusel 140.

A continuación, el motor 390, que preferiblemente consiste en un motor por pasos, es accionado de manera que haga girar el carrusel 140 en un ángulo predeterminado con el fin de alinear una primera posición de tubo de contención del carrusel 140 con el dispositivo de pipeteado 150.

Como, en función del ensayo que se realice, no es seguro que haya un tubo 142 de contención de muestra en cada una de las posiciones de tubo de contención del carrusel 140, cuando el carrusel sea hecho girar para situar cada posición de tubo de contención, en sucesión, en la posición de pipeteado, es necesario determinar si hay un tubo de contención 142 en la posición de pipeteado. Con el fin de realizar esta determinación, el aparato incluye un sistema 480 de detección de presencia de tubo, ilustrado en la figura 9. El sistema de detección 480 detecta la presencia de un tubo 142 en la posición de pipeteado merced a la detección de luz reflejada por él. Ello evita la necesidad de emplear dispositivos mecánicos, tales como conmutadores, para este fin, evitándose así la desventaja de desgaste mecánico y la necesidad eventual de reemplazar tales dispositivos.

Más particularmente, el sistema 480 de detección de presencia de tubo incluye un diodo emisor de infrarrojos (IRED) 490 posicionado junto al dispositivo de pipeteado 150 para proyectar luz 496 en dirección al tubo 142 que pueda encontrarse en la posición de pipeteado. El sistema 480 incluye, también, un fotodiodo 500 alineado verticalmente con el IRED 490 y previsto de manera que reciba luz 502 reflejada por el tubo 142 que se encuentre en esa posición.

El IRED 490 está destinado a emitir luz 496 por impulsos en respuesta a una corriente de activación por impulsos alimentada mediante un amplificador 510 de corriente controlado mediante tensión. Un oscilador 520 genera una señal de salida de impulsos correspondiente con un ciclo de trabajo del 5% y un periodo de 1,6 milisegundos. En consecuencia, el amplificador de corriente controlado mediante tensión genera la corriente de activación alimentada al IRED 490, igualmente, con un ciclo de trabajo del 5% y un periodo de 1,6 milisegundos. Al limitar el ciclo de trabajo del impulso de corriente generado por el amplificador 510 a, sustancialmente, un 5% (o un valor inferior, cuando sea práctico), el IRED puede ser activado con un nivel de corriente elevado de manera que emita impulsos de luz de intensidad relativamente elevada, para facilitar así que el sistema 480 pueda distinguir entre impulsos reflejados y niveles de luz de fondo. Además, como la pared 350 (figura 4) presenta un acabado negro plano, en ausencia de un tubo 142 en la posición de pipeteado del carrusel 140, solamente una cantidad relativamente pequeña de la luz será reflejará por la pared 350 de vuelta, en dirección al fotodiodo 500.

Una salida del fotodiodo 500 está acoplada con la entrada de un preamplificador 530 con una característica de paso de banda centrada en la frecuencia de los impulsos generados por el oscilador 520, lo que sirve para facilitar el rechazo de salidas de CC del fotodiodo así como de componentes de 60 y 120 Hz de iluminación ambiente, con el fin de reducir la sensibilidad a la luz parásita del sistema 480. Una salida del preamplificador 530 está acoplada con una primera entrada de un comparador 540, que dispone de una segunda entrada alimentada con un nivel de umbral seleccionable, como se describirá con más detalle en lo que sigue, y que proporciona una salida de nivel binario. El nivel de umbral seleccionable se determina de modo que, en ausencia de un tubo 142 en la posición de pipeteado, la señal emitida por el preamplificador 530 dará lugar a un primer estado de salida del comparador 540, mientras cuando haya un tubo 142 en la posición de pipeteado, el comparador 540 emitirá una señal de nivel binario por impulsos con la misma frecuencia y el mismo ciclo de trabajo que la salida del preamplificador 530. La salida del comparador 540 es alimentada a la entrada D de un circuito biestable 550 de tipo D que tenga un terminal de entrada de reloj acoplado con la salida del oscilador 520. De esta manera, el circuito biestable 550 es hecho retener la salida del comparador 540 al final del estado de activación del IRED 490 para sincronizar así el muestreo de la señal generada por la parte receptora de luz del sistema 480 con la emisión de luz por impulsos de la parte de transmisora del mismo. La salida del circuito biestable 550 es alimentada al sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos para proporcionar a éste la capacidad de determinar si hay un tubo en la posición de pipeteado, de manera que el dispositivo de pipeteado 150 pueda ser accionado para que aspire la muestra del tubo de forma apropiada.

El sistema 110 entrega el nivel de umbral seleccionable, en forma digital, a la entrada de un convertidor 560 digital/análogo (DAC), que retiene este valor y lo entrega en forma analógica a la segunda entrada del comparador 540 así como a un terminal de entrada de ganancia controlada mediante tensión del amplificador 510 de corriente controlado mediante tensión. La disposición precedente permite al sistema 110 controlar la sensibilidad del sistema 480 detector de presencia de tubo mediante una gama operativa dinámica relativamente amplia. Es decir, como la ganancia del amplificador 510 así como el nivel de umbral del comparador 540 se controlan mediante la misma señal, alimentada por el DAC 560, la sensibilidad del sistema es proporcional al cuadrado de la salida del DAC, de modo que la gama dinámica del sistema se amplía en relación con la gama dinámica de la salida del DAC 560.

## ES 2 313 716 T3

Al dotar al sistema 110 de la posibilidad de controlar la sensibilidad del sistema 480, es posible que el sistema 480 sea ajustado de manera que detecte de modo fiable la presencia de los tubos 142, aun cuando se usen tubos de colores y materiales diferentes que puedan reflejar diferentes cantidades de luz, y aun cuando puedan encontrarse variaciones en las posiciones y disposiciones de los tubos 142. Además, al ajustar la sensibilidad del sistema 480 por medio de una salida digital del sistema 110, el sistema 480 puede calibrarse fácilmente para compensar IRED 490 y fotodiodos 500 con características diferentes, y para compensar los efectos del envejecimiento de estos componentes.

En lo que sigue se ofrece una descripción de una técnica de calibrado ilustrativa del sistema 480. De acuerdo con la técnica, se sitúan tubos 142 en cierto número de posiciones especificadas del carrusel 140 y se hace avanzar el carrusel a posiciones en las que se sepa que haya tubos, así como a posiciones en las que se sepa que no los haya. En cada una de tales posiciones, el sistema 110 alimenta una señal de rampa digital al DAC 560 y almacena el valor de la misma al que salte el circuito biestable 550, denominándose este valor “umbral de calibrado”. Un umbral de detección para uso en la detección de la presencia de un tubo 142 en funcionamiento normal se obtiene determinando la media de los dos umbrales de calibrado que representen (1) el umbral de calibrado mínimo obtenido para las posiciones en las que haya un tubo presente, y (2) el umbral de calibrado máximo obtenido para las posiciones en las que no haya un tubo presente. De modo subsiguiente, en funcionamiento normal, el sistema 110 registra el umbral de detección en el DAC 560, de manera que el sistema 480 pueda usarlo para detectar la presencia de tubos en funcionamiento normal.

### *Sistema de manipulación de fluidos*

En la figura 10 se ilustra, con más detalle, el sistema 90 de manipulación de fluidos de la figura 1, en combinación con la celda de flujo 50 y el bloque de calentamiento 570 del calentador 70 de fluido de muestra de la figura 1. Como se muestra, un recipiente cerrado 580 que contiene fluido de limpieza está acoplado, mediante el tubo 100 del sistema 90 de manipulación de fluidos, con un sistema 590 de calentamiento adicional, y otro recipiente cerrado 600, que contiene tampón de ensayo, está acoplado, mediante el tubo de entrada 101, con el sistema de calentamiento 590. El sistema 590 de calentamiento está destinado a calentar el fluido de limpieza y el tampón de ensayo, alimentados a partir de los recipientes 580 y 600, a una temperatura dentro de un intervalo de temperatura predeterminado con el fin de facilitar el mantenimiento de la celda de flujo 50 a una temperatura deseada, así como del resto del sistema 90 de manipulación de fluidos que precede a la celda de flujo 50, para facilitar el control de la temperatura de los fluidos de muestra sometidos a pruebas de EQL en la celda de flujo 50. El funcionamiento de los sistemas de calentamiento 70 y 590 se explicará con más detalle en lo que sigue.

El fluido de limpieza, una vez calentado de modo controlado mediante el sistema 590, es alimentado, por medio de un tubo 610, a una primera entrada de una válvula múltiple 620, mientras otro tubo 630 conduce el tampón de ensayo a una segunda entrada de la válvula múltiple 620. Un tercer tubo 640, abierto al aire, está conectado con una tercera entrada de la válvula múltiple 620. La válvula múltiple 620 es accionada por solenoide, y es operativa en respuesta a señales de control recibidas por ella para seleccionar fluido de limpieza, tampón de ensayo o aire para su entrega a una salida de la misma acoplada con un tubo de salida 650 de la válvula múltiple.

La figura 11 muestra ciertos elementos del dispositivo de pipeteado 150. El dispositivo de pipeteado incluye un bloque de válvulas 660 mostrado en la figura 10 e ilustrado, en sección transversal, en la figura 11. Una entrada 670 del bloque de válvulas 660 está acoplada con el tubo de salida de la válvula múltiple 650 para recibir el fluido alimentado por la válvula múltiple 620. El dispositivo de pipeteado 150 incluye una sonda 680 montada a deslizamiento en relación con el bloque de válvulas 660, de modo que pueda ser hecha bajar para penetrar en el tubo de contención 142 respectivo y extraer líquido de él, o, alternativamente, hecha subir hasta una posición retraída, como se muestra en la figura 11. La sonda 680 está fijada en un acoplamiento 690, mostrado en sección transversal parcial, que dispone de un accesorio para recibir un tubo 700 de salida de dispositivo de pipeteado (figura 10). El acoplamiento 690 está montado en un bloque deslizante 710, montado, a deslizamiento, en un árbol 720 que cumple la función de apoyo lineal para guiar el bloque 710 y la sonda 680 asociada cuando éstos sean hechos subir y bajar. El bloque 710 está dotado de una abertura roscada (no mostrada, por motivos de simplicidad y claridad) que casa con la rosca de un husillo 730. El husillo 730 está acoplado, a rotación, con un motor por pasos (no mostrado por motivos de simplicidad y claridad), accionable, de modo controlado, para hacer rotar el husillo 730 en cualquiera de dos direcciones seleccionables, con el fin de subir o bajar, de manera controlada, el bloque 710 y la sonda 680 de pipeteado asociada. El husillo 730 y el árbol 720 son soportados por una base 732.

La sonda 680 de pipeteado es recibida, de modo deslizante, en un accesorio 740 acoplado con el bloque de válvulas 660, de manera que asegure un cierre estanco entre ellos. Cuando el bloque deslizante 710 esté retraído completamente en su posición más alta, ilustrada en la figura 11, un mecanismo de válvula de seta (no mostrado por motivos de simplicidad y claridad) acoplado con un cierre 750 montado en un muelle, aplica el cierre 750 con una abertura inferior 760 del bloque de válvulas 660 para formar un cierre estanco con ellos. En la disposición mostrada en la figura 11, pueden conducirse fluidos, por medio del tubo de salida de válvula múltiple, a través de la entrada 670 del bloque de válvulas hasta la sonda 680, con el fin de conducir fluido de limpieza, tampón de ensayo y/o aire a la parte del sistema 90 de manipulación de fluidos aguas abajo del bloque de válvulas 660, a través del tubo de salida 700. Además, el fluido de limpieza admitido en el bloque de válvulas a través de la entrada 670 sirve para limpiar la parte inferior de la sonda 680.

Cuando el bloque deslizante 710 sea hecho bajar haciendo girar de modo apropiado el husillo 730, se acciona el mecanismo de válvula de seta de modo que retire el cierre 759 de la abertura inferior 760, con el fin de que la sonda

## ES 2 313 716 T3

680 pueda bajar desde el bloque de válvulas 660 para penetrar en el tubo de contención 142 respectivo y aspirar fluido de él. En este caso, un par de juntas tóricas 766 y 768 son apretadas contra un resalto del bloque de válvulas 660 mediante una arandela 770 fijada en la sonda 680 para formar una cierre estanco con ellas.

5 El tubo de salida 700 está acoplado con una unión en T 780, cuya primera salida está acoplada con un tubo 790 por el que los fluidos son conducidos al bloque de calentamiento 570 del sistema 70 de calentamiento del fluido de muestra (figura 1) que tenga que ser calentado, con el fin de poner los fluidos conducidos por el tubo 790, sustancialmente, a una temperatura predeterminada para realizar una medición de EQL en la celda de flujo 50, que recibe el fluido calentado a partir de un tubo de salida 802 del bloque de calentamiento 570. Finalmente, el fluido recibido en una entrada de la  
10 celda de flujo 50, desde el tubo de salida 802, es conducido, a través de una salida de la misma, a una primera entrada de una válvula de derivación 810, estando acoplada una segunda entrada de la válvula de derivación 810 con una segunda salida de la unión en T 780. La válvula de derivación 810 consiste en una válvula de solenoide destinada a acoplar la salida de la celda de flujo 50 o la segunda salida de la unión en T 780 con un tubo de salida 820 de la válvula de derivación 810. El tubo de salida 820 está acoplado con una entrada de una bomba peristáltica 830 destinada a  
15 extraer fluidos, de modo controlado, del sistema 90 de manipulación de fluidos, del bloque de calentamiento 570 y de la celda de flujo 50. Una salida de la bomba peristáltica 830 está acoplada con un recipiente 840 de fluido de residuo para la eliminación de fluidos usados.

### *Alojamiento de celda de flujo y control de temperatura*

20 La celda de flujo 50 está montada dentro de un alojamiento 850 controlado ambientalmente, ilustrado en la figura 12. El alojamiento 850 presenta un tubo fotomultiplicador (TFM) 860, del sistema 60 detector de luz, montado en su superficie superior y previsto de manera que reciba luz generada por electroluminiscencia en la celda de flujo 50, prevista debajo del TFM 860, en el interior del alojamiento 850. Con el fin de reducir los niveles de luz de fondo que  
25 puedan interferir con el funcionamiento del TFM 860, todos los lados y todas las aberturas del alojamiento 850 están aislados de la luz parásita, por ejemplo, la abertura de acoplamiento del TFM 860 con el alojamiento 850. Igualmente, el alojamiento 850 está aislado contra la conducción de calor a su través mediante una cubierta aislante 870, arrancada parcialmente para simplificar la ilustración. La temperatura en el interior del alojamiento 850 se controla por medio del sistema 80 de control de temperatura de la celda de flujo de la figura 1, que cumple la función de aplicar calor en  
30 el exterior del alojamiento 850 para mantener su temperatura interior, sustancialmente, con un valor predeterminado, por medio de calentadores de hoja metálica 880 fijados mediante adhesivo en tres costados del alojamiento 850, así como en su superficie inferior. Otros detalles del sistema de control de temperatura de la celda de flujo se explicarán en lo que sigue.

35 El bloque de calentamiento 570 está montado en una superficie lateral exterior del alojamiento 850 y está hecho de un metal que ofrezca buena conductividad térmica, tal como latón. Como se muestra en la figura 12, el tubo 790 conduce fluidos de muestra, así como fluidos de limpieza, tampones de ensayo y aire, en su camino hacia la celda de flujo 50, a través del bloque de calentamiento 570, para ajustar sus temperaturas dentro de, al menos, un intervalo predeterminado de temperaturas, con el fin de permitir la realización de pruebas de EQL con los fluidos de muestra  
40 de manera reproducible. Como se muestra en la figura 12, los fluidos entregados por el bloque de calentamiento 570 son conducidos, por medio del tubo 802, a través del alojamiento 850, y, como se muestra en la figura 10, hasta la celda de flujo 50. Hay un sensor de temperatura 890, fijado en el bloque de calentamiento 570, destinado a generar una señal que represente su temperatura. Además, existen dos transistores de potencia 900, fijados en el bloque de calentamiento, previstos para aplicarle calor de modo controlable con el fin de mantener su temperatura a un nivel  
45 deseado.

La figura 13 muestra un diagrama de bloques funcional del sistema 70 de calentamiento de fluido de muestra. El sistema 70 de calentamiento de fluido de muestra está previsto a modo de controlador proporcional/integral de temperatura, con el fin de ofrecer una correspondencia precisa entre una temperatura deseada del bloque de calentamiento  
50 570 y su temperatura real. Una temperatura deseada o establecida para el bloque de calentamiento 570 se registra en un DAC 910 mediante el sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos, de modo que el valor de temperatura establecida sea emitido en forma analógica por el DAC 910, con destino a una primera entrada de un amplificador diferencial 920. Una segunda entrada del amplificador diferencial 920 es alimentada con la salida del sensor de temperatura 890, y el amplificador diferencial 920 cumple la función de generar una tensión de error que represente la  
55 diferencia entre la temperatura establecida o deseada para el bloque 570 y su temperatura real, detectada mediante el sensor de temperatura 890. La tensión de error emitida por el amplificador diferencial 920 es alimentada a la entrada de un convertidor analógico/digital 930, así como a una primera entrada de un amplificador sumador 940. La salida del amplificador sumador 940 es alimentada a la entrada de un controlador 950 destinado a entregar una corriente de calentamiento controlada a los transistores de potencia 900, para calentar el bloque 570 de modo controlado. El  
60 bucle representado por el sensor de temperatura 890, el amplificador diferencial 920, el amplificador sumador 940 y el controlador 950, representa un bucle de control proporcional, es decir, un bucle de control por el que la corriente de calentamiento es proporcional a la diferencia entre la temperatura establecida y la temperatura medida.

Típicamente, durante el funcionamiento de un bucle de control proporcional práctico con una ganancia realista  
65 (es decir, una ganancia limitada en medida suficiente como para evitar inestabilidad y oscilación consiguiente), se produce un error, en estado de equilibrio, entre el valor medido (en este caso, la temperatura real del bloque 570) y el valor deseado (es decir, la temperatura establecida). En consecuencia, el sistema 70 emplea, también, un bucle de control integral ejecutado mediante el convertidor analógico/digital 930, actuando el sistema 110 de control y

tratamiento de señales/datos a modo de integrador 960, como se ilustra en la figura 13, junto con un convertidor digital/analógico 970, destinado a convertir la salida del integrador 960 en analógica y alimentarla a una segunda entrada del amplificador sumador 940. En funcionamiento, el bucle de control integral, después de cada captación de datos por parte del convertidor analógico/digital 930, suma la tensión de error convertida a un término de integral almacenado por el sistema 110. Este valor se ajusta mediante un factor de ganancia apropiado y se registra en el DAC 970 para ser emitido en forma analógica con destino a la segunda entrada del amplificador sumador 940. La salida del DAC 970 está destinada a eliminar, sustancialmente, el error de estado de equilibrio asociado con el bucle de control proporcional. Pero, en ciertos casos el valor de la integral se modifica para acomodar limitaciones de diseño del sistema. Es decir, cuando la tensión de error sea lo bastante grande como para que el sistema de control proporcional, solamente, active los transistores de potencia con el régimen máximo, el término de la integral es ajustado por el sistema 110 a cero. Por otro lado, en el caso de que el término de la integral llega a ser lo bastante grande como para que, igualmente, active los transistores de potencia a pleno régimen, se impide que el valor de la integral aumente, para que, a partir de cierto punto, no produzca efecto alguno en la temperatura del bloque de calentamiento 570.

La figura 14 muestra un diagrama de bloques del sistema 80 de control de temperatura de celda de flujo. Aunque el sistema 80 de control de temperatura de celda de flujo de la figura 1 pueda ponerse en práctica del modo ilustrado en la figura 13 para el sistema 70 de calentamiento de fluido de muestra, el sistema ilustrado en la figura 14 es ejecutado íntegramente por el sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos. A saber, el sistema 80 de control de temperatura de celda de flujo incluye un sensor de temperatura 960 montado en la celda de flujo 50, dentro del alojamiento 850, acoplado con un convertidor analógico/digital que digitaliza la salida del sensor de temperatura 960 y la entrega al sistema 110, que cumple la función de procesador 980 de bucle de control. El procesador 980 de bucle de control pone en práctica las funciones de tratamiento proporcional e integral realizadas por el sistema 70 de la figura 13 (descrito en lo que antecede) y emite un valor digital, con destino a la entrada de un convertidor digital/analógico (DAC) 990, que representa una corriente de activación a aplicar a los calentadores de hoja metálica 880 fijados, adhesivamente, en el exterior del alojamiento 850 de la figura 12. El DAC 990 convierte el valor de activación en analógico y lo alimenta a la entrada de un activador 1000 destinado a aplicar una corriente de calentamiento correspondiente a los calentadores de hoja metálica 880. Como alternativa a los sistemas dobles de las figuras 13 y 14, en ciertas aplicaciones, el sistema 80 de la figura 14 puede eliminarse y los calentadores de hoja metálica 880 pueden ser activados, alternativamente, mediante el activador 950 del sistema 70 (figura 13). Por otro lado, en lugar de elementos de calentamiento, pueden usarse, igualmente, elementos de refrigeración para establecer una temperatura de prueba predeterminada. Tales elementos de refrigeración pueden incluir, por ejemplo, enfriadores termoelectrónicos y enfriadores por efecto Peltier. Otra alternativa consiste en someter el aparato a un medio de control de temperatura, líquido o gas (tal como aire).

La figura 15 muestra una vista, en sección transversal, del interior del alojamiento 850, en la que puede verse la celda de flujo 50 fijada en el alojamiento 850 y separada ligeramente de su superficie superior, por debajo de ella, de modo que la luz emitida por electroquimioluminiscencia en el interior de la celda de flujo 50 se propague en dirección al TFM 860, para ser convertida por éste en una señal eléctrica que represente la cantidad de luz recibida por él. La celda de flujo 50 incluye un brazo 1010 montado de modo pivotante en ella, cuyo brazo presenta un imán permanente 1020 fijado en él de modo que dicho imán 1020 pueda ser hecho pivotar bien a una posición próxima a un electrodo de trabajo de la celda de flujo 50 destinado a acumular partículas magnéticas con marcadores EQL durante un ensayo con partículas magnéticas, o bien a una posición alejada de la celda de flujo 50, por ejemplo, cuando se induzca la electroquimioluminiscencia de los marcadores EQL con el fin de evitar interferencias con el funcionamiento del TFM 860. El brazo 1020 está acoplado, por medio de un muelle helicoidal 1030, con un brazo de un accionador lineal 1040 activado por solenoide. Cuando el solenoide del accionador lineal 1040 esté desactivado, su brazo es desplazado hacia fuera por el muelle helicoidal 1030 de manera que el brazo 1010 pivote alejándose del electrodo de trabajo, como se muestra en la figura 15. Cuando el solenoide del accionador lineal 1040 sea activado, su brazo es hecho retraer dentro del alojamiento del accionador 1040, ejerciendo así una fuerza en el muelle helicoidal 1030 que, a su vez, hace girar el brazo 1010 hacia arriba con el fin de poner el imán 1020 en una posición adyacente al electrodo de trabajo de la celda de flujo 50.

Como se muestra en la figura 15, también, un ventilador 1050 accionado a motor está montado dentro del alojamiento 850 y funciona continuamente para hacer circular aire en el interior del alojamiento 850, con el fin de mantener una temperatura sustancialmente uniforme en todo su interior. Como muestra la figura 15, también, hay una tarjeta de circuito 1060 montada en la celda de flujo 50. La tarjeta de circuito 1060 incluye circuitería para acoplar el electrodo de trabajo, así como contraelectrodos y un electrodo de referencia incluidos en la celda de flujo 50, con el sistema 110, con el fin de aplicar tensión y corriente a los contraelectrodos y al electrodo de trabajo y medir tales tensiones y corrientes, así como el nivel de tensión del electrodo de referencia. La tarjeta de circuito 1060 incluye, también, un diodo fotoemisor (LED) de referencia 1070, que puede ser activado selectivamente con el fin de emitir una cantidad controlada de luz en dirección al TFM 860, para su calibrado.

## Celda de flujo

La celda de flujo se describirá ahora en relación con las figuras 16-18. La celda de flujo 50 incluye un alojamiento principal 1080 hecho de un material duradero, transparente e inerte químicamente, fácil de mecanizar o moldear por inyección, para darle la configuración ilustrada en las figuras 16-18. Pueden ser materiales adecuados para el alojamiento 1080 una resina acrílica o poli(metacrilato de metilo). El alojamiento principal 1080 presenta una primera superficie inferior 1090 (figura 17) en la que está formada una entrada de fluido, definida por un acoplamiento ros-

## ES 2 313 716 T3

cado 1100 y un conducto contiguo 1110. Como puede verse en la figura 17, el conducto 1110 se extiende desde el acoplamiento roscado 1100 hasta una superficie superior 1120 del alojamiento principal 1080.

En el alojamiento principal 1080 hay formada, también, una salida de fluido, e incluye un acoplamiento roscado 1130 que se extiende hacia arriba a partir de una segunda superficie inferior 1140 del alojamiento principal 1080 hasta otro conducto 1150, que se extiende desde el alojamiento hasta la superficie superior 1120. Una cámara o recipiente 1174 de prueba de EQL está formada entre la superficie superior 1120 del alojamiento principal 1180 y la superficie inferior de un bloque transparente 1160 fijado por encima de la superficie superior 1120 y separado de ella mediante una junta 1170 que define paredes laterales de la cámara 1174. La junta 1170 forma un cierre estanco entre el bloque 1160 y el alojamiento principal 1080, asegurándose el bloque 1160 y la junta 1170 en el alojamiento principal mediante una pluralidad de sujetadores 1180 (figura 16). La cámara 1174 así definida por el alojamiento principal 1080, el bloque 1160 y la junta 1170 comunica con el conducto 1110, adyacente a un primer costado de la cámara 1174, y con el conducto 1150, en un segundo costado de la cámara 1174, opuesto al primer costado. De esta manera, los fluidos introducidos por la entrada de fluido definida por el acoplamiento 1100 y el conducto 1110 fluyen por la cámara 1174 de derecha a izquierda, como puede verse en la figura 17, y son entregados por la cámara a través de la salida de fluido formada por el conducto 1150 y el acoplamiento roscado 1130, de manera que la entrada de fluido, la cámara y la salida de fluido definan una trayectoria de flujo de fluido en la celda de flujo 50.

Hay un electrodo 1182 de trabajo dispuesto en una ranura poco profunda (véanse, en particular, las figuras 17 y 18) formada en la superficie superior 1120 del alojamiento principal 1180 y presenta un eje longitudinal dispuesto, en general, transversalmente en relación con un eje longitudinal de la cámara 1174 que se extiende desde el primer costado de la cámara hasta su segundo costado, y está posicionado a un lado de la cámara y centralmente, entre los conductos 1110 y 1150. El electrodo de trabajo 1182 se asegura dentro de la ranura poco profunda, en la superficie superior 1120 del alojamiento principal 1080, por medio de un primer bloque de retención 1230, asegurado contra la superficie 1120 mediante un par de sujetadores, y que cumple la función de mantener un primer conductor eléctrico (no mostrado por motivos de simplicidad y claridad) en contacto conductivo con el electrodo de trabajo, con el fin de acoplarlo con la tarjeta de circuito 1060.

Hay un primer contraelectrodo 1190 (véanse, en particular, las figuras 16 y 17) que se extiende a lo largo de la superficie inferior del bloque 1160, que forma una superficie superior de la cámara 1174, desde una posición aproximadamente opuesta a un primer costado del electrodo de trabajo 1182 en dirección al primer costado de la cámara 1174 adyacente al conducto 1110, y, después, entre la junta 1170 y el bloque 1160, y continúa hacia arriba en ángulo recto extendiéndose a lo largo de un primer costado del bloque 1160. El primer contraelectrodo 1190 se asegura contra el primer costado del bloque 1160 mediante un segundo bloque de retención 1210 fijado en el bloque 1160 por medio de un par de sujetadores, y que cumple la función, también, de conectar de modo seguro un conductor eléctrico (no mostrado por motivos de simplicidad y claridad) con el primer contraelectrodo 1190, para acoplarlo con la tarjeta de circuito 1060 (figura 15).

Un segundo contraelectrodo 1200 se extiende a lo largo de la superficie inferior del bloque 1160, desde una posición aproximadamente opuesta a un segundo costado del electrodo de trabajo 1182, hacia fuera, a lo largo de la pared superior de la cámara 1174 formada por la pared inferior del bloque 1160, en dirección al conducto 1150, y, después, entre el bloque 1160 y la junta 1170 hasta un segundo costado del bloque 1160, en el que el segundo contraelectrodo forma un ángulo recto, extendiéndose hacia arriba a lo largo de él. Un tercer bloque de retención 1220 retiene el segundo contraelectrodo contra el segundo costado del bloque 1160 por medio de otro par de sujetadores, y cumple la función de acoplar de modo seguro otro conductor eléctrico (no mostrado por motivos de simplicidad y claridad) con el segundo contraelectrodo 1200, con el fin de acoplarlo con la tarjeta de circuito 1060. Los materiales adecuados para el electrodo de trabajo 1182 y los contraelectrodos 1190 y 1200 incluyen platino y oro.

Podrá verse especialmente en la figura 17 que los contraelectrodos 1190 y 1200 están dispuestos en una pared de la cámara (a saber, la superficie inferior del bloque 1160) opuesta a una segunda pared de la misma (a saber, la superficie superior 1120 del alojamiento principal 1080), en la que está dispuesto el electrodo de trabajo 1182. En las celdas de flujo convencionales los electrodos de trabajo y los contraelectrodos se posicionan en la misma pared de la cámara en la que se induce la EQL, de modo que la luz emitida pueda atravesar una pared transparente opuesta a la cámara para su detección mediante un TFM. Pero ciertos materiales de electrodos son susceptibles de exfoliarse con el paso de fluido, tendiendo así a formar un puente conductivo que crea un cortocircuito entre contraelectrodos y electrodo de trabajo, inutilizando así la celda de flujo hasta que el puente conductivo haya sido eliminado mediante limpieza.

La celda de flujo 50, mostrada particularmente en la figura 17, alivia sustancialmente este problema merced al posicionamiento de un contraelectrodo en una pared de la cámara de EQL opuesta a la pared de la misma en la que está dispuesto el electrodo de trabajo, pero de manera que la superficie del electrodo de trabajo no esté enfrentada con el contraelectrodo, sino que esté dispuesta enfrente de una pared hecha de material transparente. En consecuencia, cualquier material que pueda exfoliarse a partir de un contraelectrodo o del electrodo de trabajo no tenderá a formar un puente conductivo entre el contraelectrodo y el electrodo de trabajo, mientras que, al mismo tiempo, la luz emitida por los marcadores EQL adyacentes a la superficie del electrodo de trabajo puede ser transmitida a través de la pared transparente para su detección.

Otra ventaja de la celda de flujo 50 de las figuras 16-18 consiste en la disposición de los contraelectrodos 1190 y 1200 en lados opuestos del electrodo de trabajo 1182, que permite minimizar las variaciones del flujo de corriente

## ES 2 313 716 T3

eléctrica entre los contraelectrodos 1190 y 1200, por una parte, y el electrodo de trabajo 1182, por otra, que pueden ser causadas, por ejemplo, por variaciones del flujo de fluido o de la composición dentro de la cámara de EQL 1174.

Como se ha señalado en lo que antecede en relación con la figura 15, hay un imán 1020 montado en un brazo 1010 conectado de modo pivotante con la celda de flujo 50. Las figuras 15 y 18, en particular, muestran el brazo 1010 y el imán 1020 en una posición superior, en la que el imán 1020 ha sido puesto muy cerca del electrodo de trabajo, estando separado de él sólo por una pared 1240 relativamente estrecha 1240 del alojamiento principal 1080. En esta posición superior, el imán 1020 permite acumular partículas magnéticas unidas con marcadores EQL junto a una superficie del electrodo de trabajo expuesta a los fluidos de la cámara EQL 1174 cuando se realicen ensayos con partículas magnéticas. Como es deseable mover el imán 1020 hacia abajo alejándolo del TFM 860 cuando se realicen mediciones de EQL, el brazo 1010 está montado en el alojamiento principal 1080 mediante una espiga de pivote 1250.

Un electrodo de referencia 1260 (véanse, en particular, las figuras 16 y 17) incluye, por ejemplo, un alambre sumergido en una solución iónica retenido de modo permanente mediante un alojamiento exterior de vidrio tapado por un extremo exterior con una frita de vidrio que permita la comunicación iónica entre el fluido iónico del interior del alojamiento de vidrio y los fluidos que puedan ponerse en contacto con la frita de vidrio. Las estructuras de celda de flujo convencionales ponen la frita de vidrio del electrodo de referencia directamente en contacto con los fluidos de la trayectoria de flujo de fluido, de modo que se produce intercambio iónico con ellos y la composición química del fluido iónico del interior del alojamiento de vidrio del electrodo de referencia cambia gradualmente, de tal manera que las características eléctricas del electrodo de referencia cambian o fluctúan de modo desventajoso a lo largo del tiempo.

La celda de flujo 50 de las figuras 16-18 alivian sustancialmente este problema al interponer otro fluido iónico entre la trayectoria de flujo y el fluido iónico del interior del electrodo de referencia. Además, el segundo fluido iónico está retenido dentro de una cámara 1274 formada por el alojamiento principal 1080 y un bloque lateral 1270 asegurado en el alojamiento principal mediante una pluralidad de sujetadores y unido con él, en relación estanca, mediante otra junta 1280. El bloque 1270 puede hacerse, por ejemplo, del mismo material que el alojamiento principal 1080. Como se muestra en la figura 16, el electrodo de referencia 1260 se inserta en la cámara formada entre el bloque 1270 y el alojamiento principal 1080 para poner su frita de vidrio en contacto con un medio conductor iónico de su interior. Hay una frita de vidrio o cerámica 1290 posicionada en una abertura del interior del alojamiento principal 1080 que une el conducto 1150 con la cámara 1274 y retenida en ella mediante una clavija 1300 que aprieta contra una junta tórica 1310 para aislar la periferia exterior de la frita 1290 contra la invasión de fluidos del conducto 1150 o contra las pérdidas de medio iónico conductor de la cámara 1274 en el conducto 1150.

Hay una abertura de relleno formada en la superficie superior 1120 del alojamiento principal 1080 que se extiende hasta la cámara 1274 y se cierra mediante una clavija amovible 1320 que permite reemplazar el medio iónico del interior de la cámara 1274. Un medio iónico conductor adecuado para llenar la cámara 1274 consiste en un gel que incluya cloruro sódico y agarosa, con una concentración seleccionada para que el gel sea sólido a temperatura ambiente pero licuable a 80°C, de modo que pueda ser vertido en la cámara 1274 por la abertura de la superficie superior 1120 del alojamiento principal 1080. El gel puede contener, también, fenolftaleína, para proporcionar un indicador de detección de escapes a través de la frita 1290. En particular, la fenolftaleína vuelve el gel rosa cuando fluido de limpieza del conducto 1150 se ponga en contacto con el gel, debido a un cambio del pH del gel producido por el fluido de limpieza.

Como se ha señalado anteriormente, el sensor de temperatura 960 del sistema de control de temperatura de la figura 14 está montado en la celda de flujo 50, dentro del alojamiento 850 de la figura 15. Como se muestra en la figura 16, el sensor de temperatura 960 está montado en una pared lateral del alojamiento principal 1080.

### *Sistema de control y tratamiento de señales/datos*

Las figuras 19A a 19C muestran un diagrama de bloques del sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos de la realización de la figura 1. En relación con la figura 19A, en primer lugar, una unidad central de tratamiento (CPU) 1330, que incluye un microprocesador, microordenador o similar, está acoplada, bidireccionalmente, con una interfaz en serie RS232, 1340, acoplada con una puerta de entrada/salida 120 en serie para la comunicación de datos. La CPU 1330 está acoplada bidireccionalmente, también, con una memoria 1350 que incluye una RAM así como un memoria no volátil, proporcionada, por ejemplo, por circuitos de memoria flash. La CPU 1330 permite comunicar con una fuente externa de programas de control de ensayos a través de la interfaz 1340, con el fin de recibir tales programas y almacenarlos en la memoria 1350. La fuente de programación externa puede ser, por ejemplo, un ordenador personal en el que un usuario introduzca programas por medio de un teclado, unidad de disco u otro dispositivo de entrada. Como se explicará en lo que sigue, la unidad 110 de control y tratamiento de señales/datos permite recibir y almacenar una pluralidad de programas de control de ensayos, así como ejecutar tales programas simultáneamente, proporcionando una capacidad de multitarea que favorece un uso eficaz del aparato. Además, al permitir a un usuario crear y ejecutar múltiples programas, éste puede diseñar y probar partes relativamente pequeñas de un ensayo más complejo, lo que facilita en gran medida el desarrollo de ensayos.

La CPU 1330 está acoplada bidireccionalmente, también, con una unidad de tratamiento de temporizador (TPU) 1360 en forma de dispositivo de temporización programable destinado a generar y leer señales de reloj. Como se explicará con mayor detalle en lo que sigue, la TPU 1360 se emplea para generar señales de accionamiento de motor por pasos así como para convertir a forma digital valores convertidos tensión/frecuencia que puedan ser tratados

## ES 2 313 716 T3

por la CPU 1330. La CPU 1330 está acoplada bidireccionalmente, también, con una unidad 1370 de entrada/salida que permite la capacidad de comunicación digital entre la CPU 1330 y distintos circuitos periféricos de detección y accionamiento, como se explicará con más detalle en lo que sigue.

En relación con la figura 19B, también, puede verse que la unidad 1370 de entrada/salida está acoplada bidireccionalmente con un circuito digital de entrada/salida 1380 que cumple la función de multiplexor y demultiplexor digital de señales digitales entregadas por la unidad 1370 de entrada/salida y distintos circuitos digitales periféricos, así como la función de almacenar temporalmente diversas señales digitales que tengan que comunicarse a/desde los circuitos periféricos. Como se muestra en la figura 19B, la unidad digital de entrada/salida 1380 está acoplada con un circuito 1390 de control de motor por pasos, acoplado, también, con la TPU 1360 para recibir señales de impulsos de pasos de motor por pasos. El circuito 1390 de control de motor por pasos permite almacenar temporalmente señales de dirección y habilitación generadas por la CPU 1330 y alimentadas por medio del circuito digital de entrada/salida 1380, destinadas a generar señales de control apropiadas para accionar uno, seleccionado, de los motores por pasos del aparato, opcionalmente, en modo de alta o baja potencia y en dirección normal o inversa. El circuito 1390 de motor por pasos incluye circuitos de retención separados para almacenar señales de dirección y habilitación destinadas al motor 390 de rotación de carrusel (figura 6), a la bomba peristáltica 830 (figura 10), al accionador lineal 1040 (figura 15) y al motor de accionamiento de subida/bajada de sonda descrito en relación con la figura 11. El circuito de control de motor por pasos está acoplado con un circuito de interfaz óptica y accionamiento 1400 para alimentar las distintas señales de control de los distintos motores por pasos. El circuito de interfaz óptica y accionamiento 1400 permite desacoplar puntas de tensión generadas por los motores por pasos del resto del sistema 110, así como para generar las señales de accionamiento necesarias.

El circuito 1380 está acoplado, también, con un circuito 1410 de accionamiento de válvulas que sirve para retener señales de control destinadas a controlar los estados de los solenoides de la válvula múltiple 620, así como el estado del solenoide que controla la válvula de derivación 810, ilustradas y descritas en relación con la figura 10. El circuito 1410, igualmente, incluye circuitos de accionamiento adecuados para accionar los solenoides de las válvulas de acuerdo con las señales de control retenidas. En particular, la válvula múltiple 620 incluye tres válvulas, controladas, cada una, mediante un solenoide respectivo para comunicar una entrada respectiva de la válvula múltiple 620 con el tubo de salida 650 de la misma, o para bloquear la comunicación.

El circuito 1380 recibe, también, la salida de circuito biestable 550 de tipo D del sistema de detección de presencia de tubo de la figura 9, y la retiene para su alimentación a la CPU 1330, con el fin de detectar la presencia de un tubo de contención 142 en la posición de pipeteado. El circuito 1380 presenta una pluralidad de entradas 1430 para recibir señales de detección de temperatura de los distintos sistemas de control de temperatura descritos en lo que antecede. Además, el circuito 1380 presenta una entrada acoplada con un circuito 1440 de interfaz de conmutador óptico, que, a su vez, recibe señales de detección del interruptor óptico 472 de la figura 9 (para detectar la posición de partida del carrusel 140), de un sensor de posición de partida de la sonda 680 de la figura 11, de un sensor de posición de partida de la bomba 830 de la figura 10 y de un sensor que alimente una señal que indique si el alojamiento exterior 130 ha sido abierto, con el fin de ofrecer al sistema la posibilidad de cortar las alimentaciones de tensión alta, en ese caso. El circuito de interfaz 1440 acondiciona las señales de detección provenientes de los distintos interruptores ópticos y las retiene para proporcionar salidas apropiadas para el circuito 1380, para su entrega a la CPU 1330, con fines de control.

El circuito digital de entrada/salida 1380 dispone de una salida en serie acoplada con una entrada en serie de un convertidor digital/analógico 1450 de control destinado a retener valores digitales entregados por el circuito 1380 y convertirlos en analógicos para realizar distintas funciones de control descritas con más detalle en lo que sigue. De modo más particular, el DAC 1450 de control retiene una señal de nivel de umbral para la detección de presencia de tubo y la convierte en analógica, que alimenta, a través de una salida 1460, al comparador 540 de la figura 9 (de modo que el DAC 1450 de control pone en práctica la función del DAC 560 mostrado en la figura 9). Además, el DAC 1450 de control retiene un valor digital que representa una tensión de accionamiento del motor de agitación 250 y lo entrega, en forma analógica, a un circuito 1470 de accionamiento de motor de agitación, que, a su vez, entrega una corriente de activación al motor 250. El DAC 1450 de control, también, retiene temperaturas de ajuste de cada uno de los sistemas 70 y 80 de control de temperatura de la figura 1, así como del sistema 590 de la figura 10, y las emite en forma analógica a través de una pluralidad de circuitos de salida indicados mediante la referencia 1480, en la figura 19B. Finalmente, el DAC 1450 de control retiene un valor digital recibido del circuito 1380 que representa un nivel de tensión alta a aplicar al TFM 860, lo convierte en analógico y lo entrega a una fuente de alimentación 1490 de tensión alta de TFM para controlar la tensión alta que la fuente de alimentación 1490 aplique al TFM 860.

En relación con la figura 19C, también, el circuito digital de entrada/salida 1380 entrega valores digitales, que representan parámetros de nivel de accionamiento de LED de referencia y de generación de formas de onda, a un convertidor digital/analógico (DAC) 1500 que presenta una pluralidad de circuitos de retención, direccionables, para almacenar estos valores de manera que puedan ser alimentados, respectivamente, a un circuito 1510 de accionamiento de LED de referencia para entregar un nivel de accionamiento apropiado al LED de referencia 1070 de la figura 15, y a un generador 1520 de forma de onda, destinado a generar formas de onda apropiadas para accionar los electrodos de la celda de flujo 50 con el fin de realizar mediciones de EQL, así como para limpiar y acondicionar los electrodos. El DAC 1500 recibe, también, un nivel de tensión de referencia de un circuito 1530 de referencia de tensión.

En respuesta a los valores analógicos recibidos del DAC 1500, el generador 1520 de forma de onda genera, de modo selectivo, una forma de onda de tensión de rampa con un punto final de pendiente especificado por el valor entregado

mediante el DAC 1500, o bien, una tensión de salida constante especificada. Las formas de onda así generadas por el generador 1520 de forma de onda son alimentadas a una entrada de un potencióstato 1540. El potencióstato 1540 está acoplado con cada uno de los electrodos, electrodo de referencia, contraelectrodos y electrodo de trabajo, y cumple la función de aplicar la forma de onda recibida del generador 1520 de forma de onda de modo que el nivel de tensión que exista en el electrodo de referencia corresponda a la tensión de salida del generador 1520 de forma de onda. Como el electrodo de referencia no conduce corriente, podrá verse a partir de la figura 17 que este electrodo presentará un nivel de tensión esencialmente igual al nivel de tensión del contraelectrodo 1200. Por otro lado, el contraelectrodo 1200 está acoplado con el contraelectrodo 1190 en la tarjeta de circuito 1060, de modo que el nivel de tensión del contraelectrodo 1190 es igual al del contraelectrodo 1200. Además, hasta que empiece a circular corriente entre los contraelectrodos y el electrodo de trabajo 1182, el nivel de tensión del electrodo de trabajo 1182 será esencialmente igual al de los contraelectrodos y al del electrodo de referencia. Pero, una vez que empiece a circular corriente desde los contraelectrodos al electrodo de trabajo en respuesta a una tensión de activación aplicada entre los contraelectrodos y el electrodo de trabajo mediante el potencióstato 1540, el nivel de tensión en la superficie del electrodo de trabajo cae por debajo del nivel de tensión de los contraelectrodos y del electrodo de referencia en proporción a la cantidad de corriente que circule entre los contraelectrodos y el electrodo de trabajo. Ello ofrece la ventaja de reducir la pendiente de la forma de onda de tensión en la superficie del electrodo de trabajo, lo que da lugar a una mejora de la sensibilidad de medición. Otros detalles del funcionamiento del generador 1520 de forma de onda y del potencióstato 1540 pueden conseguirse a partir del documento de patente norteamericana nº 5.068.088, expedido el 26 de noviembre de 1991, titulado "Method and apparatus for conducting electrochemiluminescent measurements" (Método y aparato para realizar mediciones de electroquimioluminiscencia).

El potencióstato 1540 genera una tensión de detección de corriente que representa la corriente que circula entre los contraelectrodos y el electrodo de trabajo, así como valores que representan niveles de tensión de electrodo, y alimenta estas señales en forma analógica a una primera entrada de un multiplexor y convertidor tensión/frecuencia 1550 con una pluralidad de entradas por las que recibe tensiones analógicas respectivas que tengan que ser multiplexadas y convertidas en señales en el dominio de la frecuencia, que, a su vez, entrega al circuito digital de entrada/salida 1380 y a la unidad 1360 de tratamiento de temporizador para su conversión en una forma adecuada para ser tratadas mediante la CPU 1330. El circuito 1550 recibe, también, la salida del generador 1520 de forma de onda, la tensión de referencia del circuito 1530 y una señal de detección de temperatura del sensor de temperatura 960 (figura 16) para su multiplexado y conversión de la misma manera que las señales recibidas del potencióstato 1540. Un luminómetro 1560 recibe la salida del TFM 860 y entrega una salida de ganancia baja a través de un terminal de salida 1562 y una salida de ganancia alta a través de un circuito de salida 1564, estando acoplado cada uno de ellos con una entrada respectiva del multiplexor y convertidor tensión/frecuencia 1550. Al preverse salidas de ganancia baja y alta a partir del luminómetro 1560 se consigue una gama dinámica de funcionamiento amplia para el aparato. Finalmente, el circuito 1550 dispone de una entrada destinada a recibir una entrada de referencia de nivel de tierra.

#### *Lógica de control y tratamiento de señales/datos*

La figura 20 proporciona un diagrama que ilustra las relaciones funcionales entre elementos de programa básicos de la lógica que controla el funcionamiento de la CPU 1330 de la figura 19A. El sistema 110 emplea un sistema operativo multitarea 1570 en el que un programa de supervisión 1580 gestiona el funcionamiento global del sistema 110, y, por tanto, de todo el aparato. La lógica incluye, también, secuencias binarias 1590, cada una de las cuales puede ser activada mediante una orden de nivel superior para realizar una tarea predefinida, relativamente específica. Se incluyen, también, una pluralidad de motores 1600 de secuencia, cada uno de los cuales funciona independientemente de los otros motores de secuencia y cumple la función de intérprete de órdenes de nivel superior, activando las secuencias binarias 1590 cuando sea apropiado para ejecutar estas órdenes. Cierta número de controladores 1610 de dispositivo ejecutan órdenes que controlan equipos de instrumentos, tales como válvulas, motores por pasos y similares merced a la emisión de señales de control digitales apropiadas por parte de la unidad de entrada/salida 1370 de la figura 19A. Los controladores 1610 de dispositivo controlan, también, el almacenamiento de programas de control de ensayos recién recibidos en la memoria no volátil incluida en el bloque de memoria 1350 de la figura 19A. Finalmente, un controlador 1620 de enlace de datos gestiona las comunicaciones de datos por medio de la interfaz RS232 1340, incluso actividades tales como formación de paquetes, encaminamiento y verificación de errores.

El programa de supervisión cumple la función de inicializar el sistema, que incluye preparar los controladores 1610 de dispositivo, inicializar los equipos e iniciar la tarea de control de enlace de datos. Además, el programa de supervisión activa un motor 1600 de secuencia en respuesta a una orden recibida por la puerta de entrada/salida 120 en serie, y, luego, asume un papel secundario, a la espera de un evento que requiera su intervención. Tales eventos incluyen, por ejemplo, un error del sistema, una solicitud de reinicialización del sistema y un fallo del enlace de datos, en cuyo caso parte del sistema o todo él puede requerir su inicialización, mediante el programa de supervisión. Además, si el programa de supervisión ha activado una pluralidad de motores 1600 de secuencia que funcionen simultáneamente, cumple la función de seguir las condiciones del sistema en general y responde a cualquier conflicto entre instrucciones ejecutadas por motores de secuencia diferentes con el fin de resolverlo.

La tabla I que sigue ofrece un compendio de órdenes a disposición de un usuario para programar el funcionamiento de la realización de la figura 1, que pueden ser introducidas, por medio de la puerta de entrada/salida 120 en serie, individualmente o en forma de programa de control de ensayos almacenado y ejecutado, selectivamente, mediante el sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos.

TABLA I

| COMPENDIO DE ORDENES PROGRAMABLES POR EL USUARIO |                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ORDEN                                            | DESCRIPCION                                                                                                                                                                               |
| Captar                                           | Inicia o termina la captura de datos que representen luminosidad por EQL (compensada en temperatura), nivel de corriente oscura, o nivel de referencia (LED de referencia 1070 activado)  |
| Carrusel                                         | Sitúa el carrusel 140 en posición de partida o lo mueve a la siguiente posición de tubo, como se seleccione                                                                               |
| Carrpos                                          | Mueve el carrusel 140 a una posición de tubo especificada                                                                                                                                 |
| Cello                                            | Corta alimentación eléctrica a celda de flujo 50 por apertura de bucle de realimentación de potencióstato 1540 y establecimiento de cortocircuito en su salida                            |
| Calentador                                       | Establece una temperatura especificada de uno de los sistemas de calentamiento 70, 80 o 590 seleccionado                                                                                  |
| I <sub>t</sub>                                   | Inicia tiempo de activación de aparato (instrumento) especificado                                                                                                                         |
| Ireset                                           | Reinicializa aparato                                                                                                                                                                      |
| Lumref                                           | Activa LED de referencia 1070 para calibrado de TFM 860                                                                                                                                   |
| Imán                                             | Mueve imán 1020 hacia arriba o hacia abajo                                                                                                                                                |
| TFM                                              | Establece tensión alta de TFM 860 (para seleccionar sensibilidad de TFM de acuerdo con los requisitos del ensayo seleccionado)                                                            |
| Sonda                                            | Mueve la sonda 680 hacia arriba o hacia abajo, como se seleccione                                                                                                                         |
| Ptog                                             | Cambia la polaridad de la forma de onda generada por el generador 1520 de forma de onda y habilita el potencióstato 1540                                                                  |
| Bomba                                            | Pone la bomba peristáltica 830 en posición de partida, activa la bomba con una velocidad y una dirección especificadas, o desactiva la bomba, como se seleccione                          |
| Rampa                                            | Controla el generador 1520 de forma de onda de manera que genere una forma de onda de tensión de rampa con un punto final y una pendiente especificados, y habilita el potencióstato 1540 |
| Almacenar programa                               | Almacena programa de control de ensayo recibido a través de la interfaz RS232                                                                                                             |
| Válvula                                          | Activa o desactiva, selectivamente, una válvula especificada,                                                                                                                             |
| Tensión                                          | Controla generador de forma de onda de manera que emita un nivel de tensión constante especificado y habilita el potencióstato 1540                                                       |
| Vortex                                           | Establece velocidad de rotación del motor de agitación 250 (entre cero y un valor máximo)                                                                                                 |

## ES 2 313 716 T3

Las órdenes compendiadas en la Tabla I se acompañan de una descripción que ofrece información adicional, necesaria para ejecutar la orden, tal como dispositivo a accionar, estado de dispositivo (velocidad, dirección, estado de activación/desactivación, posición) o señal a generar. Por ejemplo, la orden “Captar” requiere una descripción que especifique el tipo de datos a capturar, mientras que la orden “Calentador” requiere una descripción que especifique el sistema de calentamiento 70, 80 o 590 particular cuya temperatura tenga que establecerse. La orden “Captar”, como podrá verse en la Tabla I, también, inicia o termina una actividad de captura de datos, especificada mediante la descripción. Por otro lado, cuando se activa “Captar” con el fin de terminar la captura de datos de luminosidad por EQL, se ejecuta una tarea de compensación de temperatura. De modo más específico, la memoria 1350 almacena una tabla de valores que especifican la magnitud del ajuste que tenga que hacerse durante una lectura de luminosidad por EQL determinada en función de la desviación de la temperatura de fluido de muestra real en relación con la temperatura de prueba nominal. En otros términos, los medios de memoria almacenan datos que representen la dependencia de la temperatura de la luz generada por electroquimioluminiscencia. Al ejecutar la rutina de compensación de temperatura, la temperatura medida mediante el sensor 960 de temperatura previsto en la celda de flujo 50 se emplea para acceder a los datos de compensación apropiados para este fin.

### Ensayo ilustrativo

En lo que sigue se describe un ensayo de EQL de partículas magnéticas ilustrativo para realizar cierto número de mediciones de EQL de muestras presentadas en tubos de contención 142 respectivos dispuestos por un usuario en el carrusel 140 (figura 4). Se apreciará que, como el aparato es programable, pueden realizarse otros ensayos que difieran sustancialmente del ensayo ilustrativo descrito, pero que hagan uso, también, de las particularidades de la presente invención, y, por tanto, queden dentro del alcance de las reivindicaciones de la misma.

Las figuras 21A y 21B muestran un diagrama de flujo de un bucle principal de tratamiento del ensayo ilustrativo. En relación con la figura 21A, en primer lugar, una vez iniciado el tratamiento, el aparato se inicializa y se especifican los parámetros de ensayo, como se indica mediante la etapa 1630. Es decir, el aparato se reinicializa mediante la orden Ireset, y, luego, se especifican los parámetros, el número de tubos de contención 142 a muestrear durante el ensayo y la puesta en práctica de una subrutina de limpieza de sistema “Limpiar” 1640. Las figuras 22A y 22B muestran un diagrama de flujo de la subrutina “Limpiar”. La subrutina “Limpiar”, cuando se activa, procede a accionar la válvula de solenoide de fluido de limpieza de la válvula múltiple para alimentar fluido de limpieza al tubo de salida 650 de la válvula múltiple 620, como se indica mediante la etapa 1650, de acuerdo con la orden “Válvula” compendiada en la Tabla I. Durante la etapa siguiente, 1660, se activa la bomba peristáltica mediante la orden “Bomba”, y, durante una etapa subsiguiente, 1670, por medio de la orden “Tensión” se hace que el generador de forma de onda genere un nivel de tensión constante  $V_c$  que ajuste la tensión de la celda de flujo 50 sustancialmente al nivel  $V_c$ , con el fin de hacer pasar un fluido de limpieza por la celda de flujo 50 con una tensión de limpieza predeterminada.

Después, durante una etapa 1680, se activa y desactiva la válvula de derivación un número (N) predeterminado de veces por medio de la orden “Válvula”, con el fin de expulsar material extraño que haya quedado atrapado en la unión en T 780 (figura 10). Subsiguientemente a la etapa 1680, durante una etapa 1690, la entrada de aire de la válvula múltiple se abre y cierra N veces con el fin de provocar golpes de aire en el sistema (mientras la bomba permanece activada) para desplazar mecánicamente material en partículas, que, luego, sea eliminado mediante el fluido de limpieza. Durante la etapa siguiente 1700, se abre la válvula de tampón de ensayo de la válvula múltiple (mientras la válvula de solución de limpieza está cerrada) con el fin de introducir tampón de ensayo en el sistema. La subrutina “Limpiar” se concluye desactivando la bomba durante la etapa 1730.

El programa, una vez devuelto al bucle principal ilustrado mediante las figuras 21A y 21B, inicia la ejecución de un bucle de programa que incluye las etapas 1740 a 1790, repetidamente, hasta que todos los tubos de muestra hayan sido examinados. De acuerdo con el bucle repetido, el carrusel, primero, es movido a la posición del siguiente tubo mediante la orden “Carrusel”, durante la etapa 1740. Después, se activa una subrutina “Iniciar\_tubo” 1750.

Con referencia ahora a las figuras 23A y 23B, la subrutina “Iniciar\_tubo” está destinada a extraer fluido de muestra de un tubo de contención 142 en la posición de pipeteado. De acuerdo con la subrutina “Iniciar\_tubo”, durante una etapa 1800 la bomba es puesta en la posición de partida de manera que pueda retirarse del tubo una cantidad precisa de la muestra. Durante una etapa 1810 subsiguiente se pone en marcha el motor de agitación mediante la orden “Vortex”, y, después, se abre la válvula de tampón de ensayo de la válvula múltiple mediante la orden “Válvula” durante una etapa 1820. Durante la etapa 1830 subsiguiente, se activa la bomba para hacer pasar el tampón de ensayo por la celda de flujo mientras que durante la etapa 1840 se aplican una serie de rampas de tensión con el fin de acondicionar el electrodo de trabajo, poniéndolo en una condición electroquímica reproducible por eliminación de una capa de óxido de su superficie de trabajo, o bien, formándola en ella. Después, la tensión se mantiene en un valor preestablecido con el fin de aplicar un potencial constante predeterminado al electrodo de trabajo que permita acondicionarlo para garantizar resultados de prueba reproducibles.

Después, se desconecta el motor de agitación (etapa 1850), se desactiva la bomba y se devuelve a su posición de partida (paso 1860), y se cierra la válvula de tampón de ensayo (etapa 1870), a modo de preparación para aspirar la muestra del tubo de contención. Una vez concluidas estas etapas, se hace bajar la sonda 680 de manera que penetre en el tubo de contención de acuerdo con la orden “Sonda”, durante la etapa 1880, y el imán es puesto en su posición superior durante una etapa 1890 de acuerdo con la orden “Imán”, con el fin de atraer partículas magnéticas con marcadores de EQL unidos con la superficie del electrodo de trabajo cuando el fluido de muestra penetre en la celda de flujo 50. A

continuación, la muestra es introducida en la sonda de acuerdo con una sucesión de etapas 1900, 1910 y 1920, por las que la bomba es activada y mantenida en estado de activación durante un periodo de tiempo predeterminado por medio de la orden “I<sub>t</sub>”, durante la etapa 1910, al final de la cual se desactiva la bomba (etapa 1920). Una vez desactivada la bomba, cierta cantidad de muestra medida de modo preciso ha sido introducida en la sonda 680, que, a continuación, se retira del tubo de muestra mediante la orden “Sonda”, como se indica mediante la etapa 1930, y el proceso retorna al bucle principal de tratamiento de las figuras 21A y 21B.

Una vez devuelto al bucle principal, el programa activa una subrutina “Trans”, de acuerdo con una etapa 1760, durante la cual el fluido de muestra es hecho pasar por la celda de flujo 50 con un régimen controlado, con el fin de acumular las partículas magnéticas en el fluido adyacente al electrodo de trabajo de manera controlada, para garantizar la reproducibilidad de los resultados de la prueba. De acuerdo con la subrutina “Trans”, ilustrada en la figura 24, se abre la válvula de tampón de ensayo de la válvula múltiple para alimentar tampón de ensayo al tubo de salida 650 de la misma durante una etapa 1940. Durante una etapa 1950 subsiguiente se activa la bomba para introducir tampón de ensayo en el sistema durante un periodo de tiempo predeterminado y con un régimen controlado de modo que el fluido de muestra que preceda al tampón de ensayo en el sistema de transferencia de fluidos, sea hecho pasar de modo controlado por la celda de flujo 50, como se ha mencionado en lo que antecede, seguido de tampón de ensayo, para retirar partículas de muestra que no hayan sido capturadas por el imán en la superficie del electrodo de trabajo. Después, durante una etapa 1960, se abre la válvula de fluido de limpieza de la válvula múltiple (y se cierra la válvula de tampón de ensayo) durante un periodo de tiempo predeterminado para introducir fluido de limpieza en el sistema, aunque, todavía, no en la celda de flujo 50. Al final del periodo de tiempo predeterminado se cierra la bomba (etapa 1970), se cierran todas las válvulas de la válvula múltiple (etapa 1980) y el imán se mueve a la posición inferior (etapa 1990), a modo de preparación para realizar la medición de EQL, después de lo cual el programa retorna de nuevo al bucle principal. Una vez devuelto al bucle principal, el programa activa una subrutina “Medir” (etapa 1770) para realizar la medición de EQL. De acuerdo con la figura 25 en que se compendia la subrutina “Medir”, en primer lugar, se obtiene un nivel de corriente oscura del TFM 860, durante una etapa 2000, (que realmente representa tres órdenes, a saber, “Activar captar nivel de corriente oscura”, seguida de “I<sub>t</sub>” durante un periodo de tiempo de activación predeterminado, y, luego, “Desactivar captar de nivel de corriente oscura”). De modo subsiguiente, se ejecuta otra orden “Captar” para iniciar la captura de datos de EQL durante una etapa 2010, después de la cual se aplican una secuencia adecuada de formas de onda de tensión de rampa a la celda de flujo 50, como se indica mediante la etapa 2020, con el fin de inducir electroquimioluminiscencia de modo controlable mediante el fluido de muestra de la celda de flujo 50. Después de un periodo de tiempo predeterminado, se ejecuta de nuevo la orden “Captar”, con el fin de acabar la tarea de captura de datos de EQL, como se indica mediante la etapa 2030. Una vez terminada la captura de datos de EQL, la tensión de la celda de flujo se ajusta a cero (etapa 2040), se aplica una tensión de excitación al LED de referencia merced a la ejecución de la orden “Lumref” (etapa 2050) y se ejecuta una secuencia “Captar” (etapa 2060) para capturar lecturas de TFM, con el fin de disponer de una referencia para evaluar el estado operativo del TFM. Una vez capturados los datos de referencia, se desactiva el LED de referencia (etapa 2070) y el programa vuelve de nuevo al bucle principal. Después de la subrutina “Medir”, se ejecuta otra vez la subrutina “Limpiar” (etapa 1780), y, durante la etapa subsiguiente 1790, se determina si todos los tubos de muestra han sido leídos. En caso negativo, el programa retorna a la etapa 1740 con el fin de iniciar otra secuencia de medición destinada a medir el contenido de la muestra del tubo de contención siguiente.

Una vez realizadas todas las mediciones, de acuerdo con el ensayo ilustrativo, el programa, después de la etapa 1790, continúa con una etapa 2080 por la que se desactivan los distintos dispositivos del aparato, seguida de una etapa 2090 en la que se cierran las distintas válvulas del aparato, después de lo cual el sistema 110 de control y tratamiento de señales/datos es puesto en condición de espera durante la etapa 2100, con el fin de terminar el ensayo.

Se apreciará que distintos elementos de la presente invención pueden ponerse en práctica, total o parcialmente, usando circuitería analógica o digital, y que todas las funciones de control así como las funciones de tratamiento de señales y datos de la misma, o parte de ellas, puedan ejecutarse mediante circuitos permanentes dedicados o mediante el uso de un microprocesador, microordenador o similar.

Aunque en este documento se hayan descrito con detalle realizaciones específicas de la invención con referencia a los dibujos adjuntos, debe entenderse que la invención no se limita a esas realizaciones precisas, y que los expertos en la técnica podrán efectuar en ellas distintos cambios y modificaciones sin salirse del alcance de la invención, definido mediante las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

1. Un aparato para uso en la realización de mediciones de pruebas de electroquimioluminiscencia, que comprende:

5 una celda de flujo (50), destinada a contener una muestra de fluido electroquimioluminiscente, que presenta una entrada (1100, 1110) de fluido, para recibir la muestra de fluido electroquimioluminiscente, y una salida (1130, 1150) de fluido, para conducir la muestra de fluido electroquimioluminiscente a partir de la celda de flujo (50), y que comprende, además, un sistema (802, 820) de transporte de fluido acoplado con la entrada (1100, 1110) de fluido y la salida (1130, 1150) de fluido con el fin de conducir la muestra de fluido hasta la entrada (1100, 1110) de fluido y conducir la muestra de fluido a partir de la salida (1130, 1150) de fluido;

un electrodo de trabajo (1182) que presenta una superficie de electrodo dentro de la celda de flujo;

15 una alimentación de energía eléctrica, acoplada con el electrodo de trabajo (1182), destinada a alimentar energía eléctrica a la muestra de fluido electroquimioluminiscente del interior de la celda de flujo (50);

medios (860) de generación de señales de salida, destinados a generar una señal de salida que represente un valor detectado basándose en la luz generada por electroquimioluminiscencia a partir de la muestra de fluido en el interior de la celda de flujo (50);

20 **caracterizándose** el aparato por medios (70; 80) de ajuste de efecto de temperatura que, en uso, generan una señal de salida ajustada de acuerdo con el efecto de la temperatura en la electroquimioluminiscencia, realizando dichos medios de ajuste de efecto de temperatura, al menos, una de las funciones siguientes:

25 a) ajustar la temperatura de la muestra de fluido electroquimioluminiscente a un valor incluido en un intervalo predeterminado de valores de temperatura cuando la muestra de fluido electroquimioluminiscente sea conducida a la celda de flujo mediante el sistema de transporte de fluido; y

30 b) ajustar la señal de salida basándose en la temperatura de la muestra de fluido; y

c) establecer la temperatura de la celda de flujo dentro del intervalo predeterminado de valores de temperatura.

35 2. El aparato de la reivindicación 1, en el que los medios (70; 80) de ajuste de efecto de temperatura están destinados a ajustar la temperatura de la muestra de fluido a un valor que se encuentre en un intervalo predeterminado de valores de temperatura.

40 3. El aparato de la reivindicación 2, en el que los medios (70; 80) de ajuste de efecto de temperatura están destinados a establecer, sustancialmente, una temperatura predeterminada de la muestra de fluido que se encuentre en un intervalo predeterminado de valores de temperatura.

4. El aparato de la reivindicación 2, en el que los medios (70; 80) de ajuste de efecto de temperatura están destinados a calentar la muestra de fluido hasta un valor que se encuentre en el intervalo predeterminado de valores de temperatura.

45 5. El aparato de la reivindicación 2, en el que los medios (70; 80) de ajuste de efecto de temperatura están destinados a enfriar la muestra de fluido hasta un valor que se encuentre en el intervalo predeterminado de valores de temperatura.

6. El aparato de la reivindicación 1, en el que los medios (70; 80) de ajuste de efecto de temperatura están destinados a ajustar la señal de salida basándose en la temperatura de la muestra de fluido electroquimioluminiscente para generar una señal de salida ajustada de acuerdo con el efecto de temperatura.

50 7. El aparato de la reivindicación 6, en el que los medios (70; 80) de ajuste de efecto de temperatura comprenden medios de memoria (110) que almacenan datos que representan la dependencia de la temperatura de la luz generada por electroquimioluminiscencia, y medios (890, 920, 940, 950; 930, 960, 970, 940; 960, 970, 980, 990, 1000; 1050) para ajustar la señal de salida basándose en los datos almacenados.

8. El aparato de la reivindicación 1, en el que:

60 dicha celda de flujo (50) comprende un alojamiento (1080) de celda de flujo que define una cámara (1174) de muestra, formada entre una superficie superior (1120) del alojamiento principal (1080) y una superficie inferior de un bloque transparente (1160) fijado por encima de la superficie superior (1120), destinada a contener dicha muestra de fluido electroquimioluminiscente, presentando el alojamiento (1080) de la celda de flujo una entrada definida por un acoplamiento (1100) y un conducto (1110) contiguo, formados a través de una primera superficie inferior (1090) del alojamiento principal (1080), para introducir la muestra de fluido electroquimioluminiscente en la cámara (1174) de muestra, y una salida de fluido definida por un acoplamiento (1130) que se extiende hacia arriba a partir de una segunda superficie inferior (1140) del alojamiento principal (1080) hasta otro conducto (1150) que se extiende desde el acoplamiento hasta la superficie superior (1120), para entregar la muestra de fluido de la cámara (1174) de muestra, definiendo la entrada (1100, 1110) de fluido y la salida (1130, 1150) de fluido una trayectoria de flujo de fluido en

## ES 2 313 716 T3

el alojamiento (1080) de la celda de flujo, estando previstos dicho electrodo de trabajo (1182) y un contraelectrodo (1190; 1200) dentro del mismo recipiente (1174) para su exposición a la muestra de fluido electroquimioluminiscente contenida en él;

5 definiendo dicho alojamiento (1080) de celda de flujo un recipiente (1274) con medio iónico acoplado con la trayectoria de flujo de fluido de manera que se produzca intercambio iónico entre ellos, y existiendo un electrodo de referencia (1260) dispuesto dentro del recipiente con medio iónico para su exposición al medio iónico contenido en él; y

10 en el que el recipiente (1274) con medio iónico está dispuesto en el interior del alojamiento (1080) de la celda de flujo, en una cámara formada por el alojamiento principal (1080) y un bloque lateral (1270) asegurado en el alojamiento principal.

9. El aparato de la reivindicación 1, en el que:

15 dicha celda de flujo (50) comprende una cámara (1174) de muestra que presenta una trayectoria de flujo de fluido a su través, estando definida la entrada de fluido de la cámara (1174) de muestra por un acoplamiento (1100) y un conducto contiguo (1110) formados a través de una primera superficie inferior (1090) del alojamiento principal (1080), con el fin de introducir una muestra de fluido electroquimioluminiscente en la trayectoria de flujo de fluido, y estando  
20 definida la salida de fluido por un acoplamiento (1130) que se extiende hacia arriba, a partir de una segunda superficie inferior (1140) del alojamiento principal (1080), hasta otro conducto (1150) que se extiende desde el acoplamiento hasta la superficie superior (1120), para entregar la muestra de fluido de la trayectoria de flujo de fluido, con el fin de conducir fluidos a través de la cámara (1174) de muestra en una dirección de flujo a lo largo de la trayectoria de flujo de fluido desde la entrada (1100, 1110) de fluido hasta la salida (1130, 1150) de fluido;

25 dicha superficie de electrodo del electrodo de trabajo (1182) está dispuesta a un lado de la trayectoria de flujo de fluido, y la cámara (1174) de muestra permite la transmisión, a su través, de luz generada por electroquimioluminiscencia a partir de la muestra de fluido adyacente a la superficie del electrodo de trabajo; y

30 dicho aparato comprende, además, medios de contraelectrodo (1190; 1200) con el fin de entregar una corriente eléctrica, a través de la muestra de fluido, a la superficie de electrodo de trabajo, incluyendo los medios de contraelectrodo (1190; 1200) una primera parte (1190) dispuesta aguas arriba de la superficie del electrodo de trabajo y una segunda parte (1200) dispuesta aguas abajo de la superficie del electrodo de trabajo.

35 10. El aparato de la reivindicación 1, en el que:

dicha celda de flujo (50) comprende una cámara (1174) de muestra formada entre la superficie superior (1120) del alojamiento principal (1080) y la superficie inferior de un bloque transparente (1160) fijado por encima de la superficie superior (1120), con una trayectoria de flujo de fluido a su través, presentando la cámara (1174) de muestra una entrada  
40 (1100, 1110) de fluido definida por un acoplamiento (1100) y un conducto contiguo (1110) para la introducción de una muestra de fluido en la trayectoria de flujo de fluido, y una salida de fluido definida por un acoplamiento (1130) que se extiende hacia arriba, desde una segunda superficie inferior (1140) del alojamiento principal (1080), hasta otro conducto (1150) que se extiende desde el acoplamiento hasta la superficie superior (1120) para entregar la muestra de fluido de la trayectoria de flujo de fluido, con el fin de conducir fluidos a través de la cámara (1174) de muestra con  
45 una dirección de flujo a lo largo de la trayectoria de flujo de fluido desde la entrada (1100, 1110) de fluido hasta la salida (1130, 1150) de fluido;

dicho aparato comprende, además, un primer contraelectrodo (1190; 1200) con una superficie de electrodo expuesta a los fluidos en la trayectoria de flujo de fluido;

50 dicho electrodo de trabajo (1182) está posicionado dentro de la cámara (1174) de muestra y con una superficie del electrodo expuesta a los fluidos en la trayectoria de flujo de fluido; y

dicha superficie de electrodo del electrodo de trabajo (1182) está desplazada lateralmente en relación con la superficie de electrodo del primer contraelectrodo (1190; 1200) en la dirección de flujo de fluido de la trayectoria de flujo de fluido, de tal manera que el material conductivo que penetre en la trayectoria de flujo de fluido proveniente de la superficie de electrodo de uno de dichos primer contraelectrodo (1190; 1200) y electrodo de trabajo (1182) no forme un puente conductivo con el otro de dichos primer contraelectrodo (1190; 1200) y electrodo de trabajo (1182).

60 11. El aparato de la reivindicación 10, en el que al menos parte de la superficie de electrodo del primer contraelectrodo (1190) está posicionada aguas arriba de la superficie de electrodo del electrodo de trabajo (1182); y

en cuyo aparato comprende, además, un segundo contraelectrodo (1200) posicionado dentro de la cámara (1174) de muestra y que presenta una superficie de electrodo expuesta a los fluidos en la trayectoria de flujo de fluido;

65 estando la superficie de electrodo del segundo contraelectrodo (1200) desplazada lateralmente en relación con la superficie de electrodo del electrodo de trabajo (1190), estando posicionada al menos parte de la superficie de electrodo del segundo contraelectrodo (1200) aguas abajo de la superficie de electrodo del electrodo de trabajo (1182).

## ES 2 313 716 T3

12. Un método para realizar mediciones de pruebas de electroquimioluminiscencia, que comprende introducir una muestra de fluido en una celda (50) de un aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, alimentar energía eléctrica a la muestra de fluido por medio del electrodo de trabajo (1182) con el fin de inducir electroquimioluminiscencia, y detectar dicha electroquimioluminiscencia.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

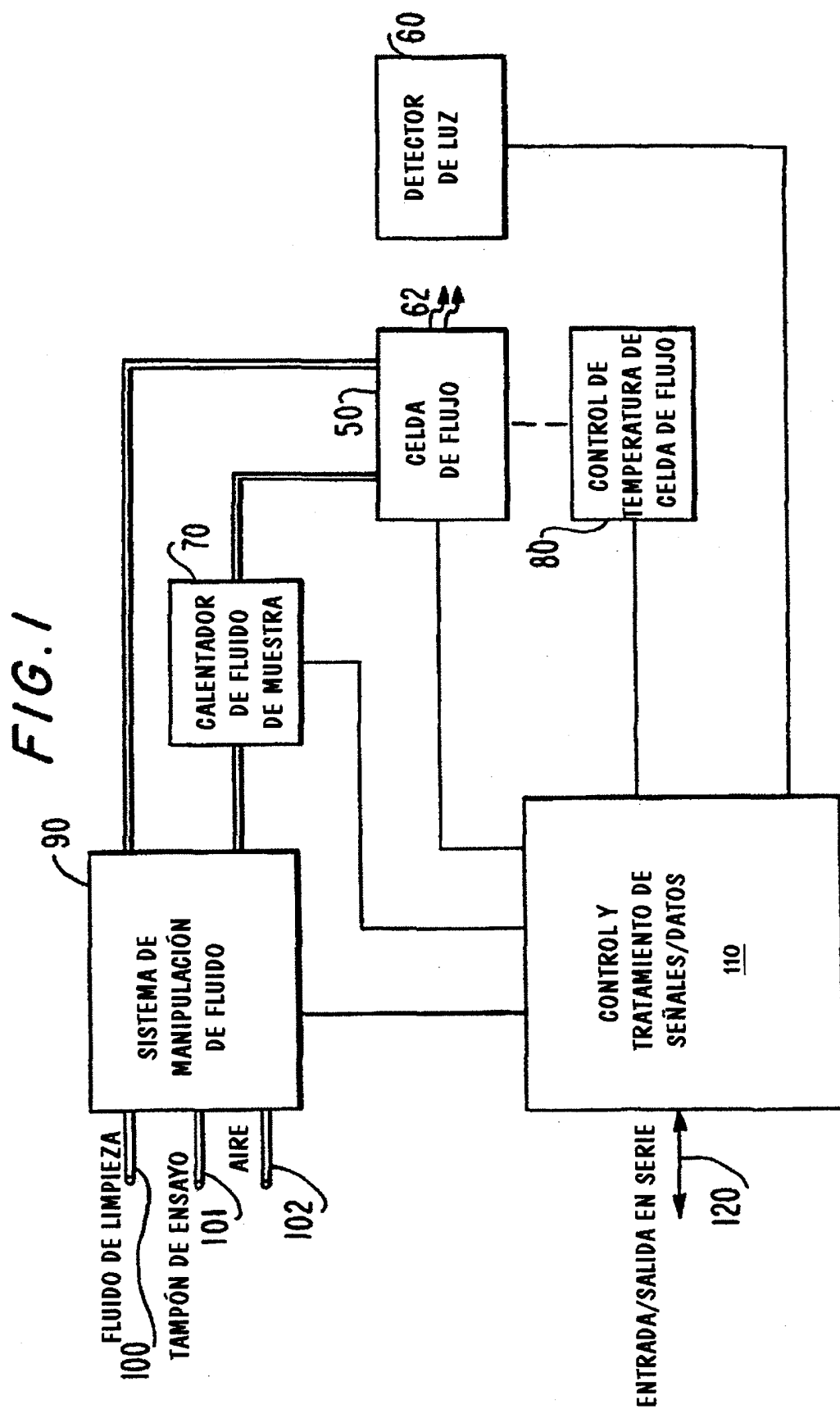
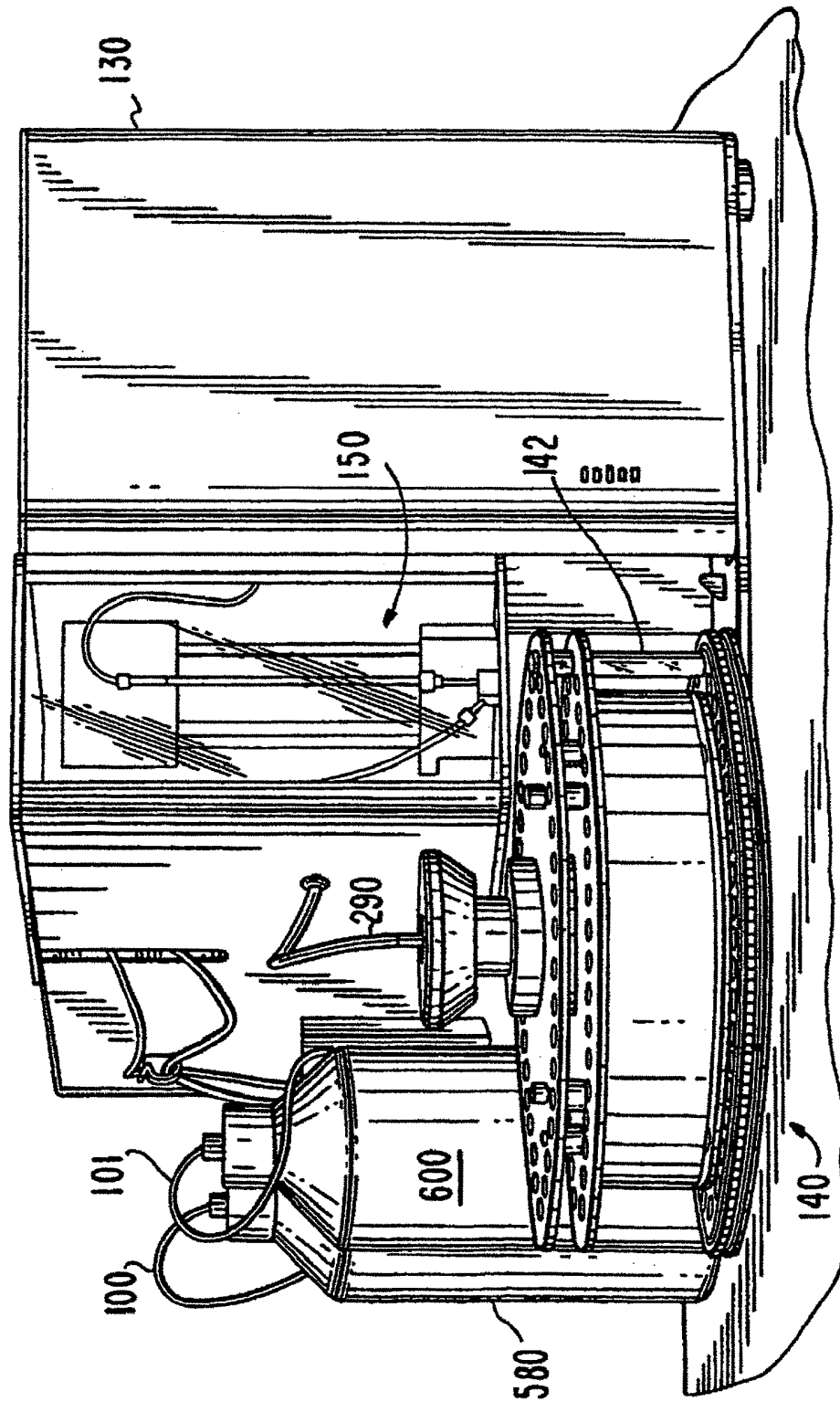
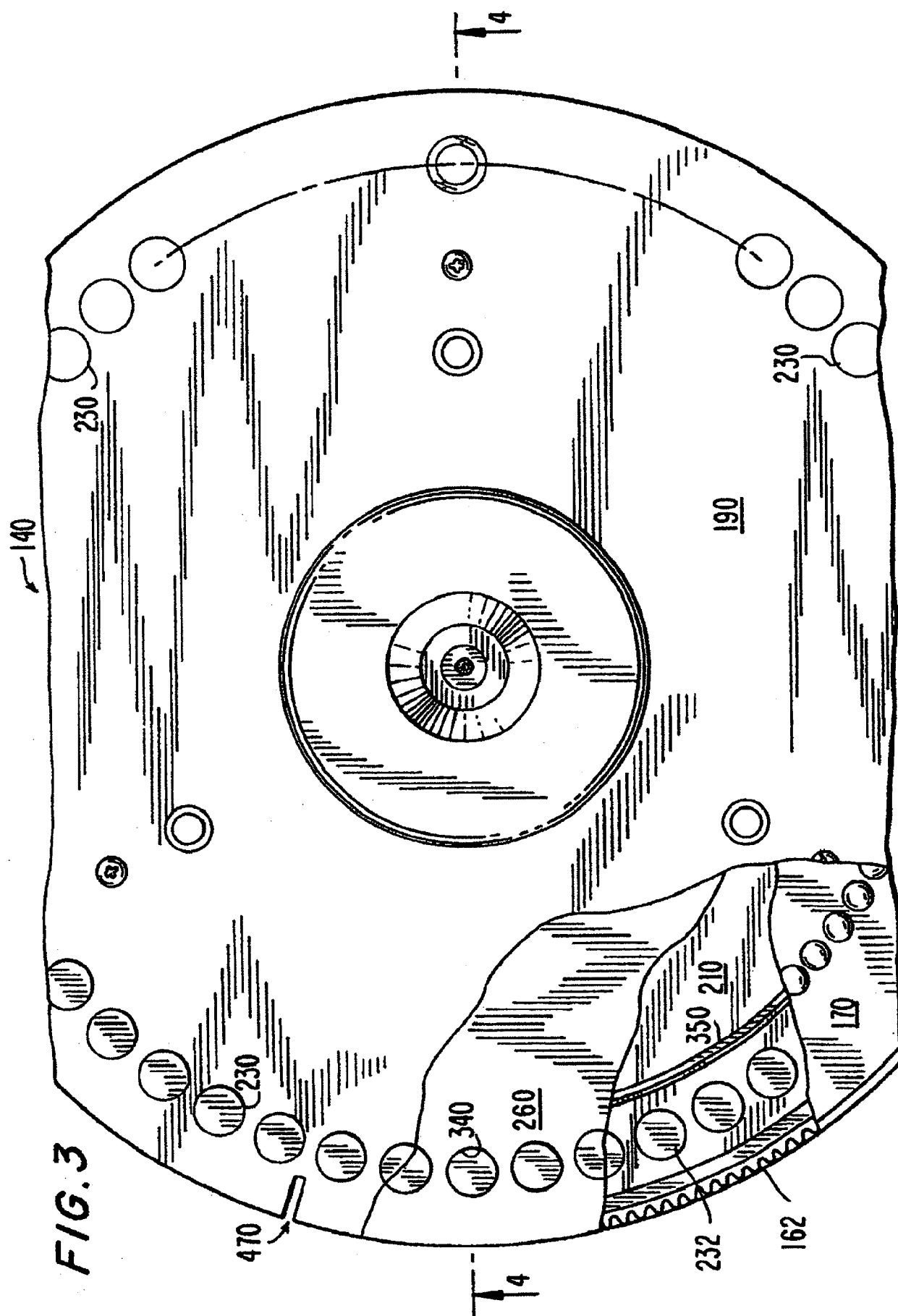
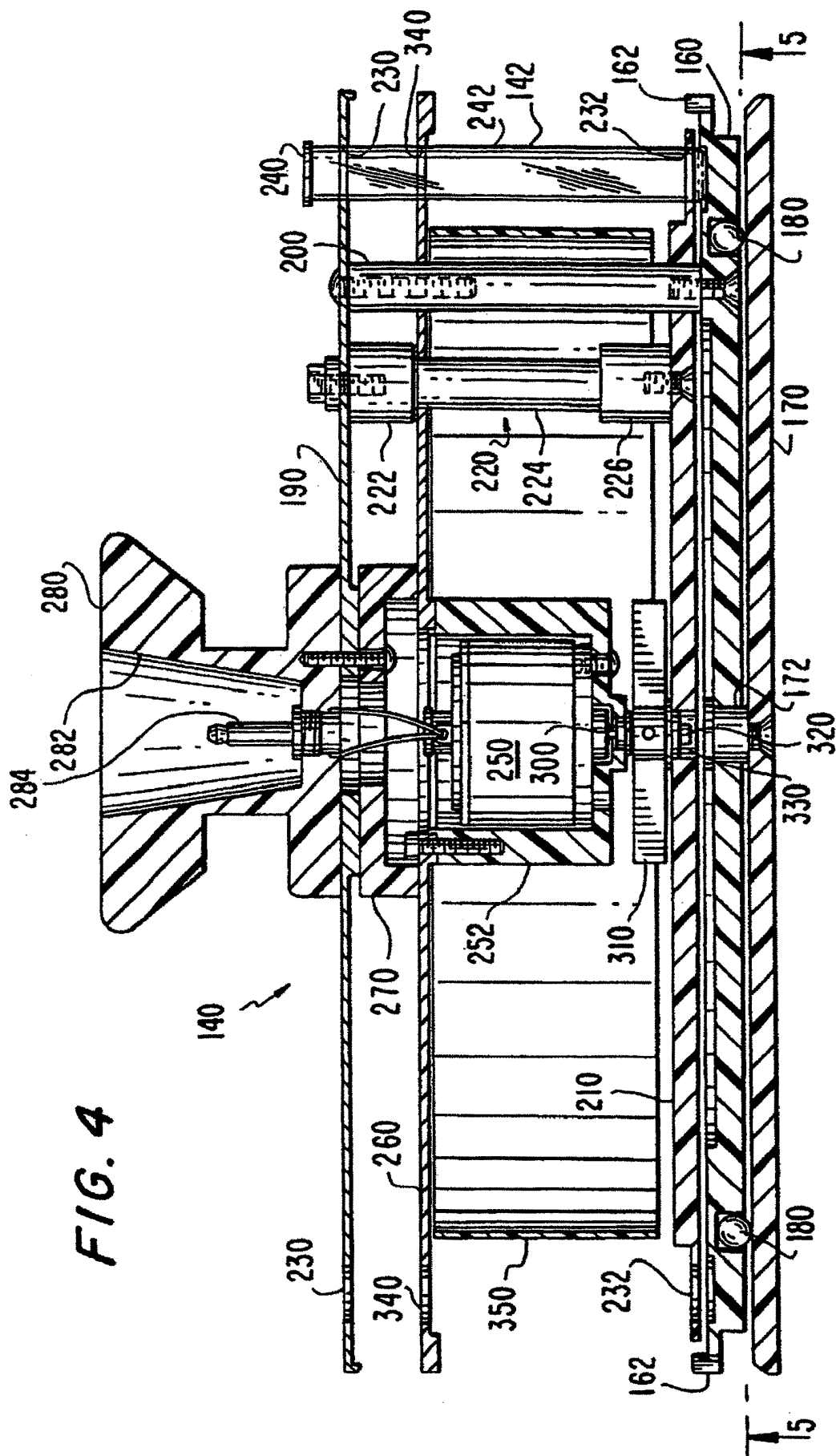


FIG. 2







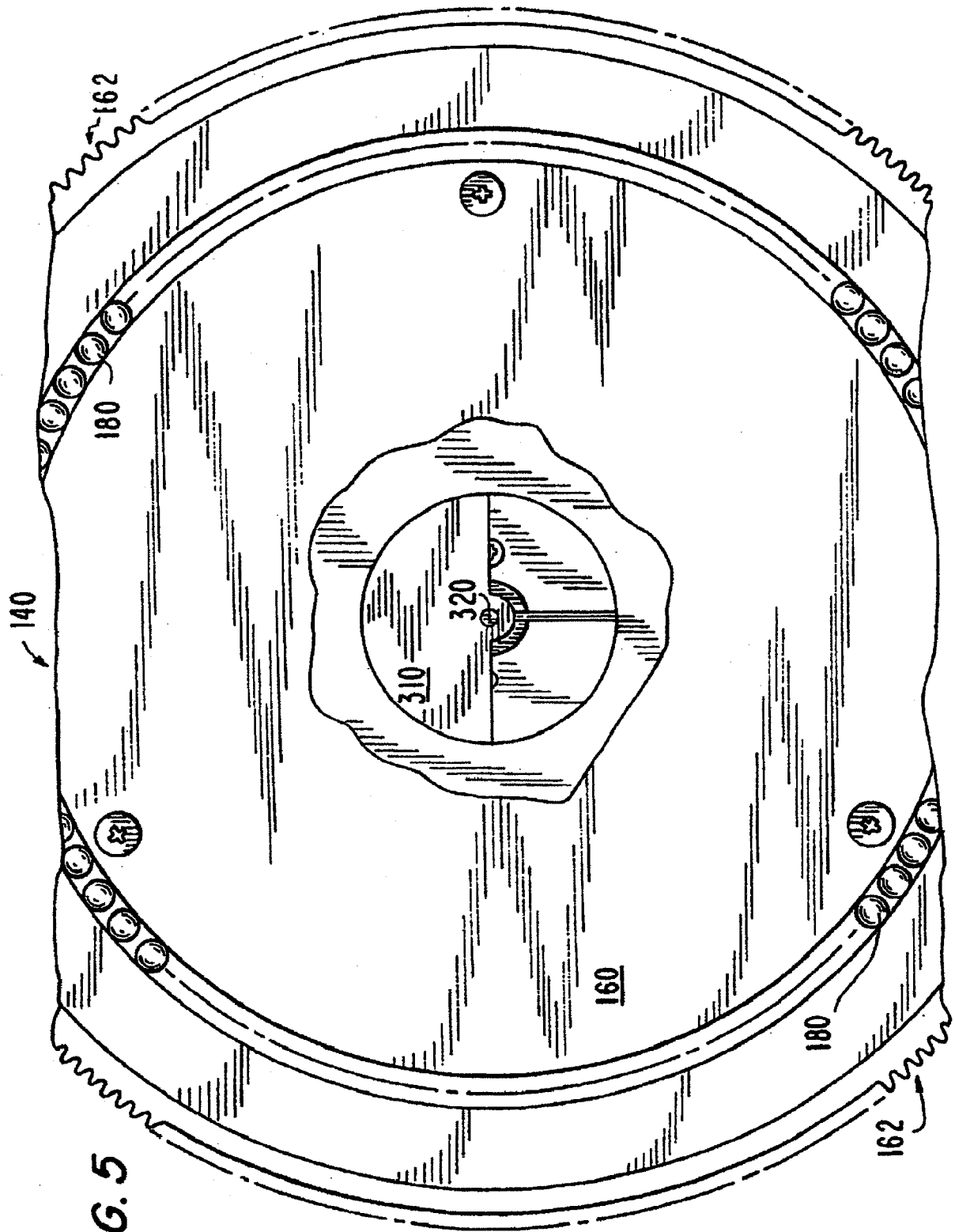
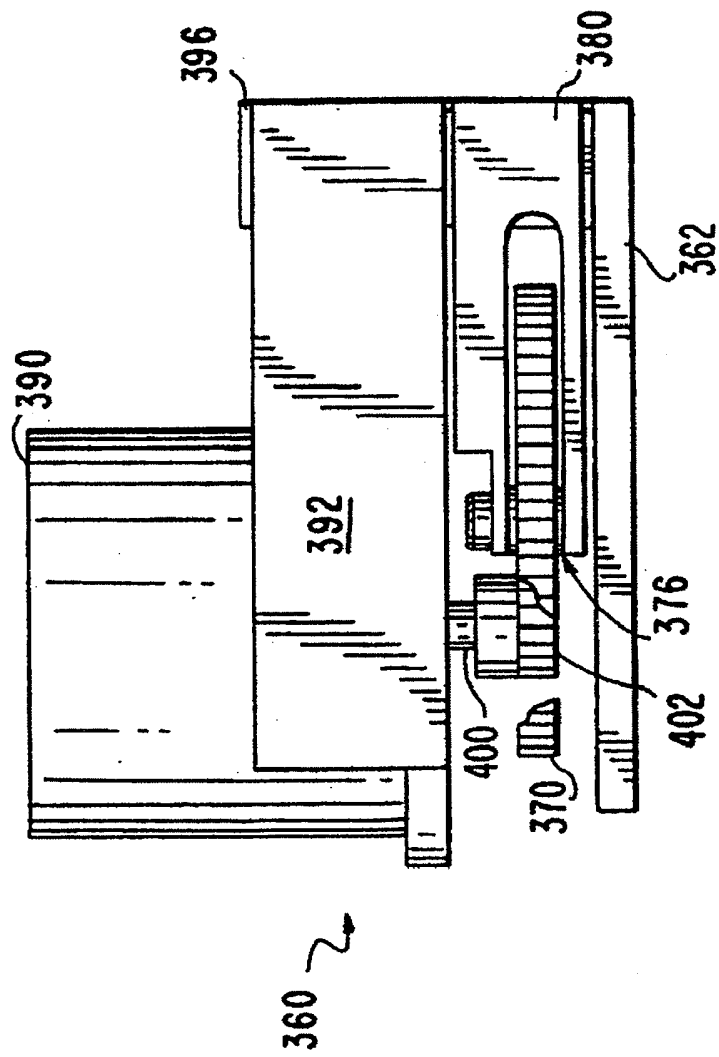
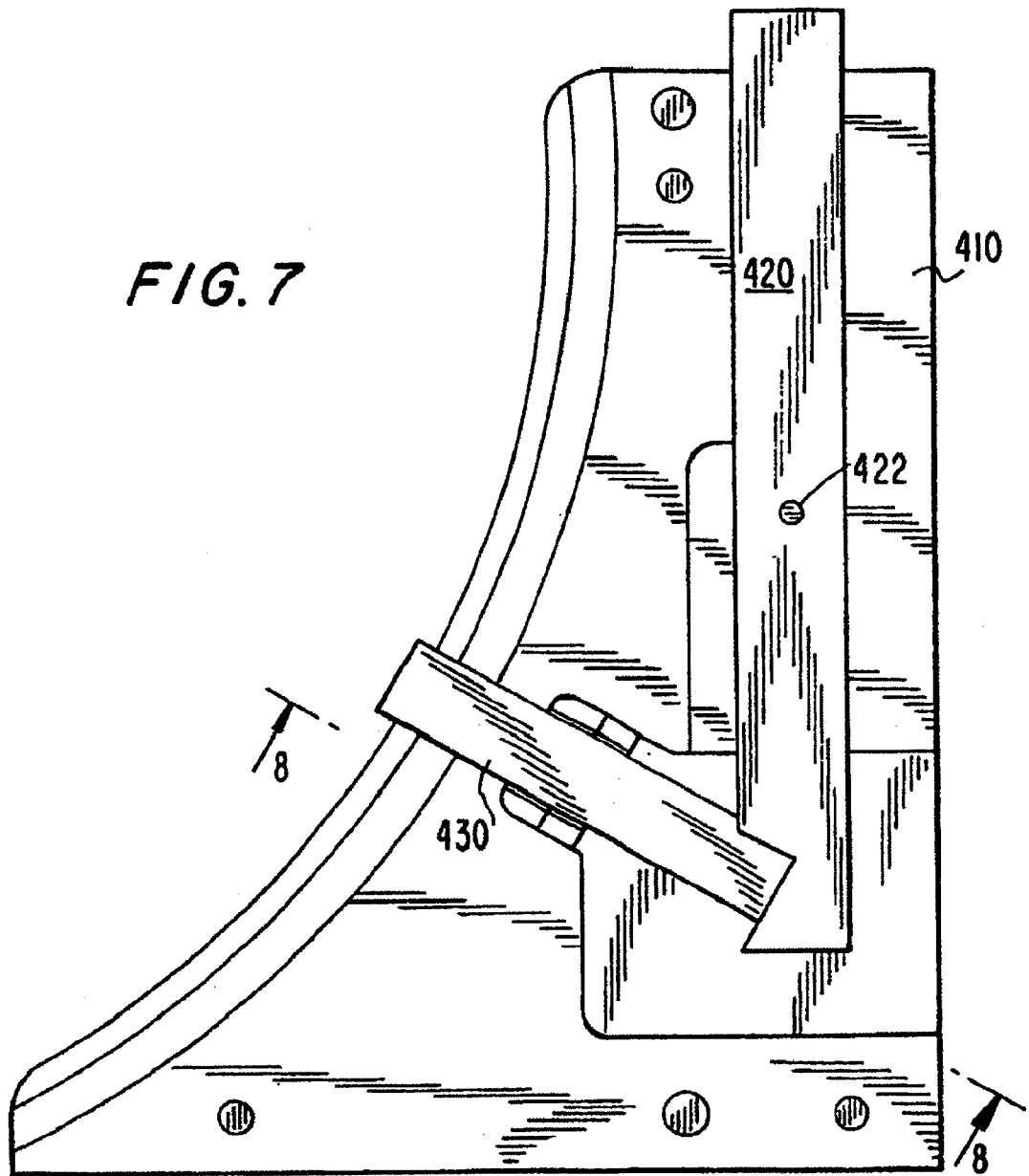


FIG. 5

FIG. 6



**FIG. 7**



**FIG. 8**

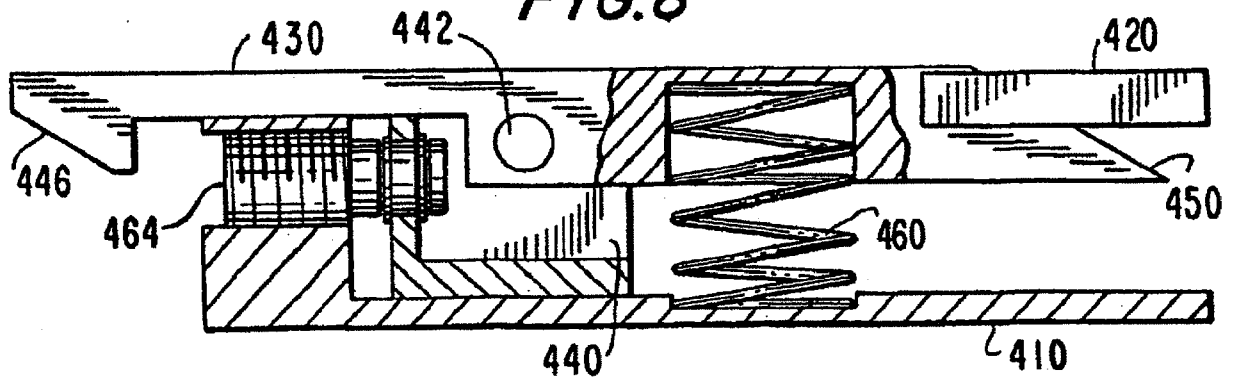


FIG. 9

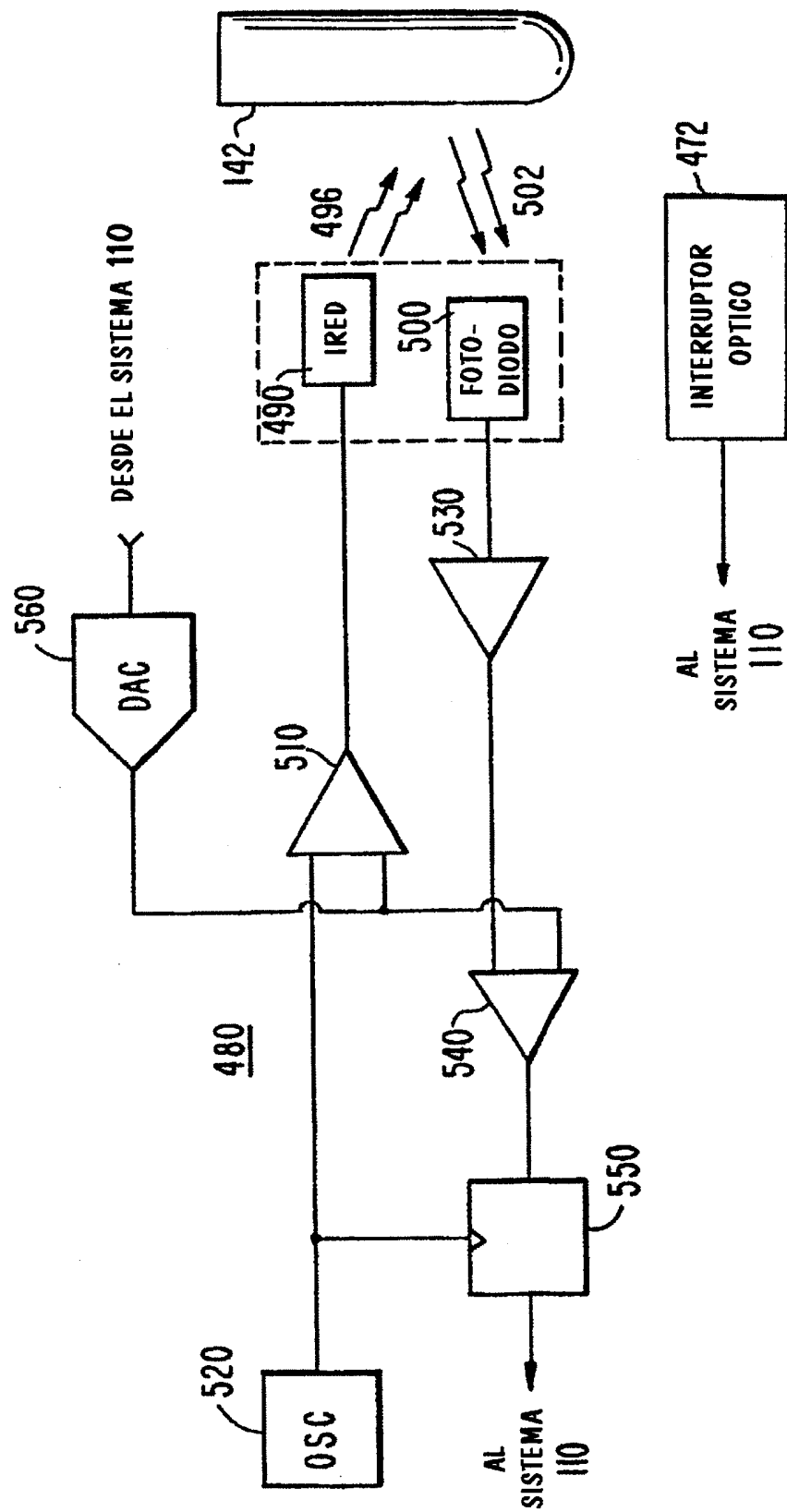
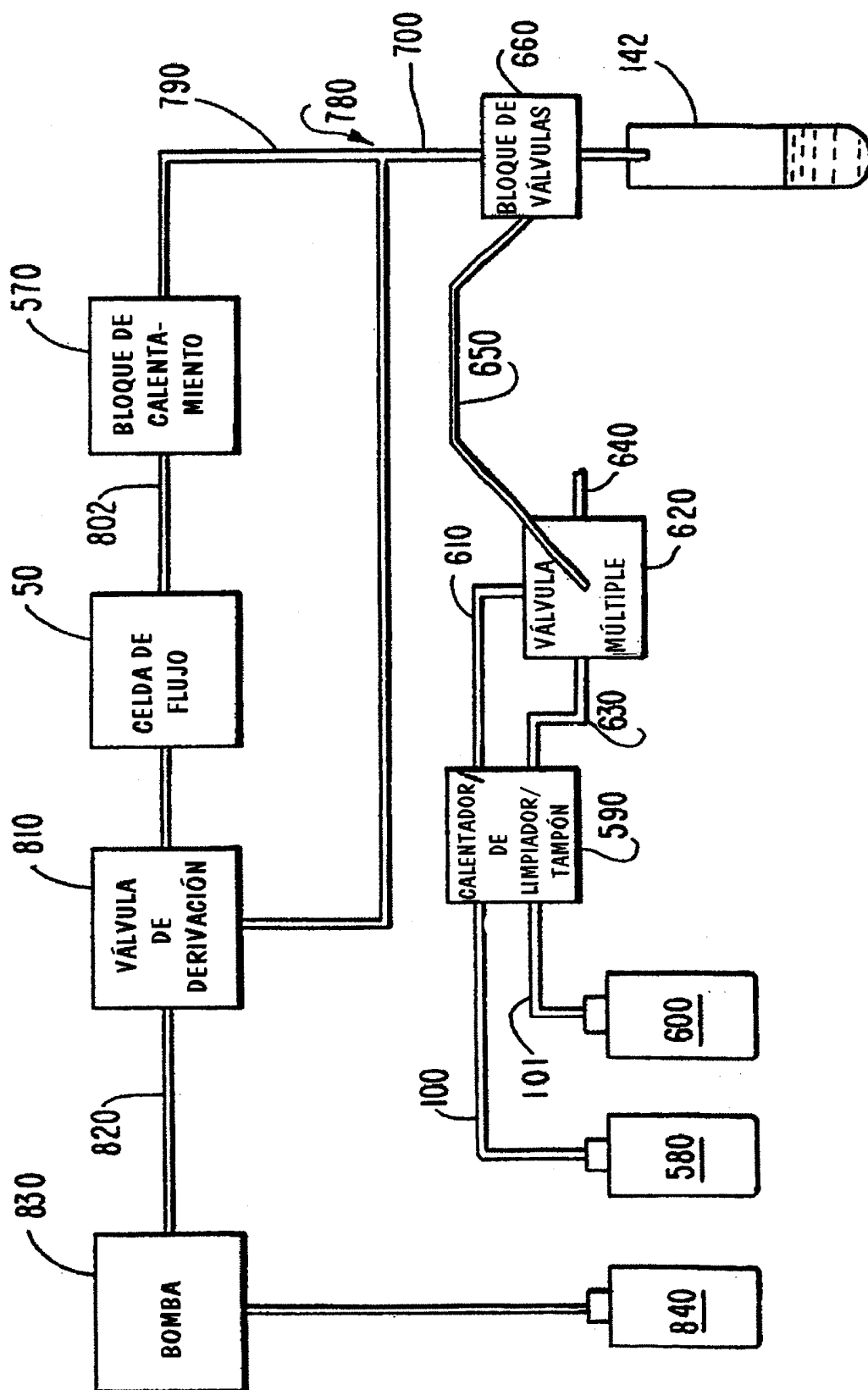
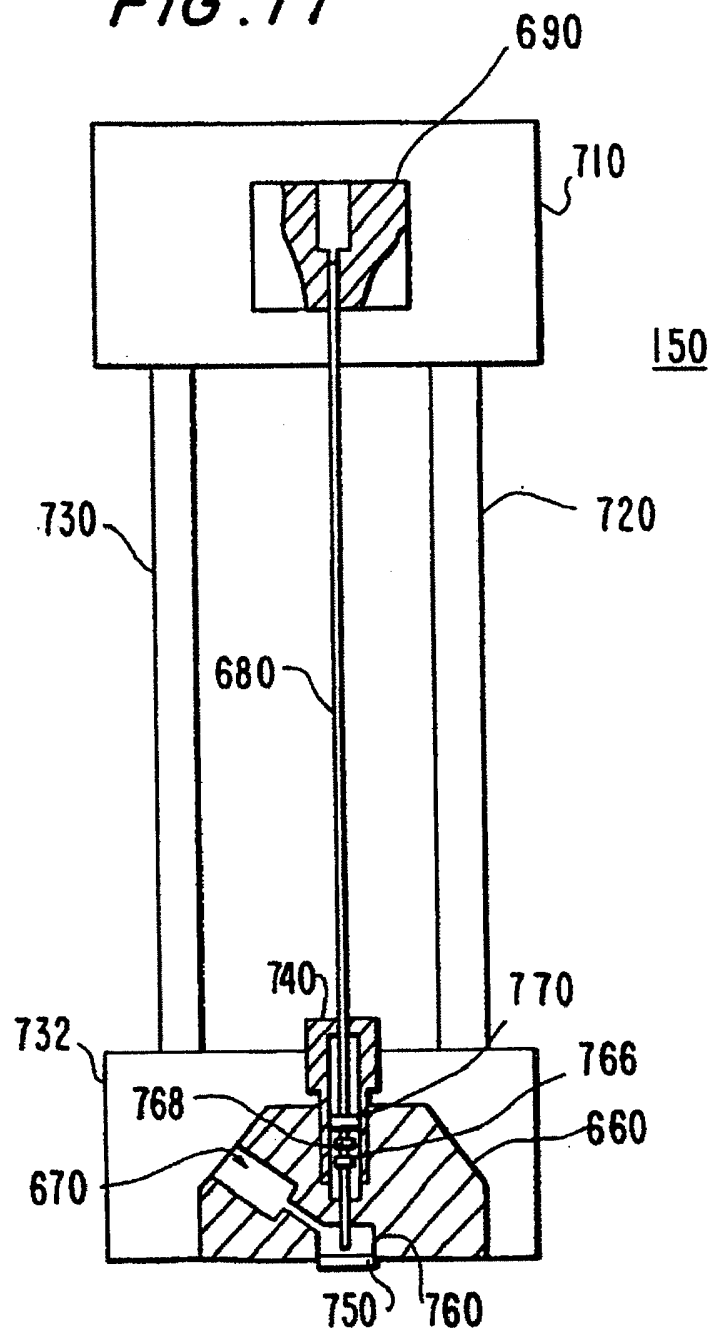


FIG. 10



**FIG. 11**



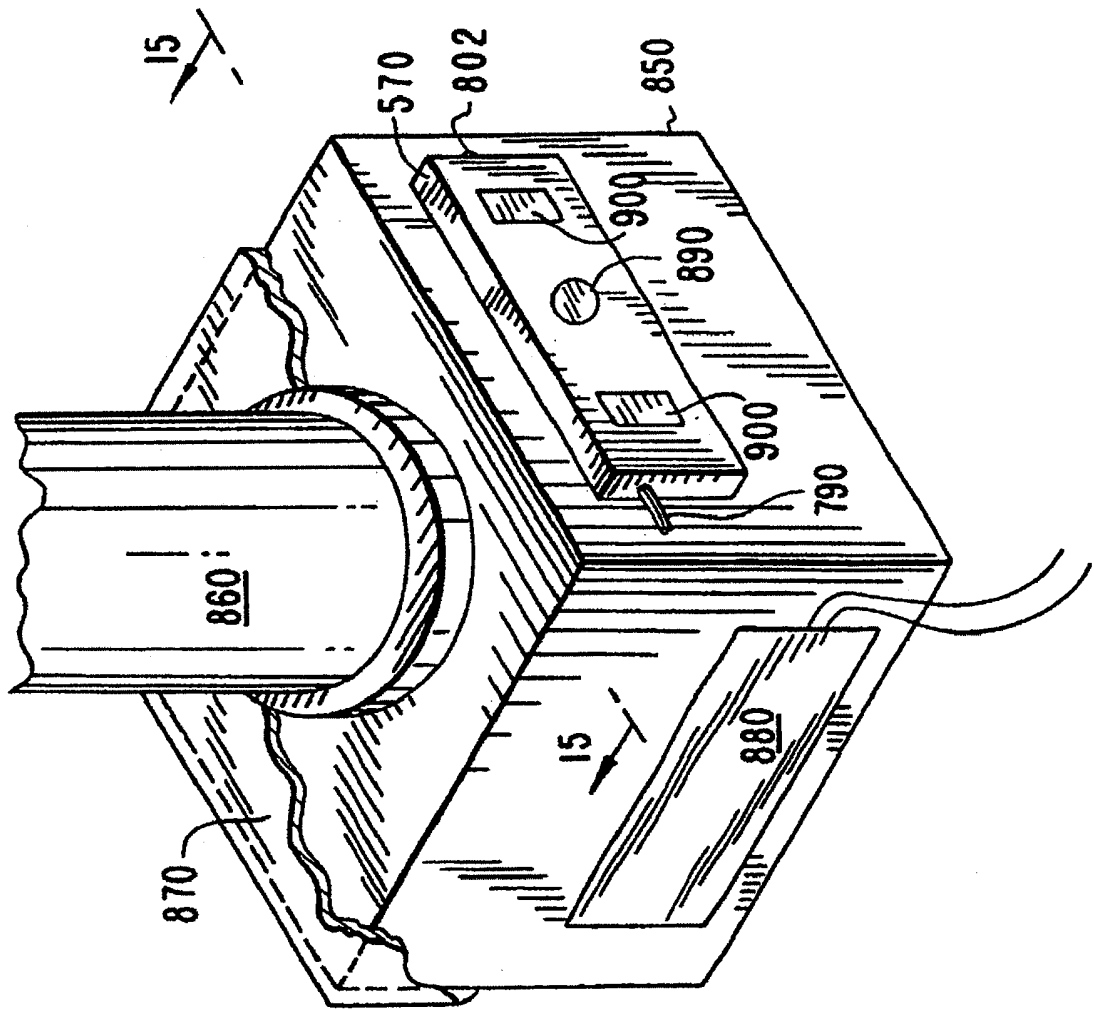
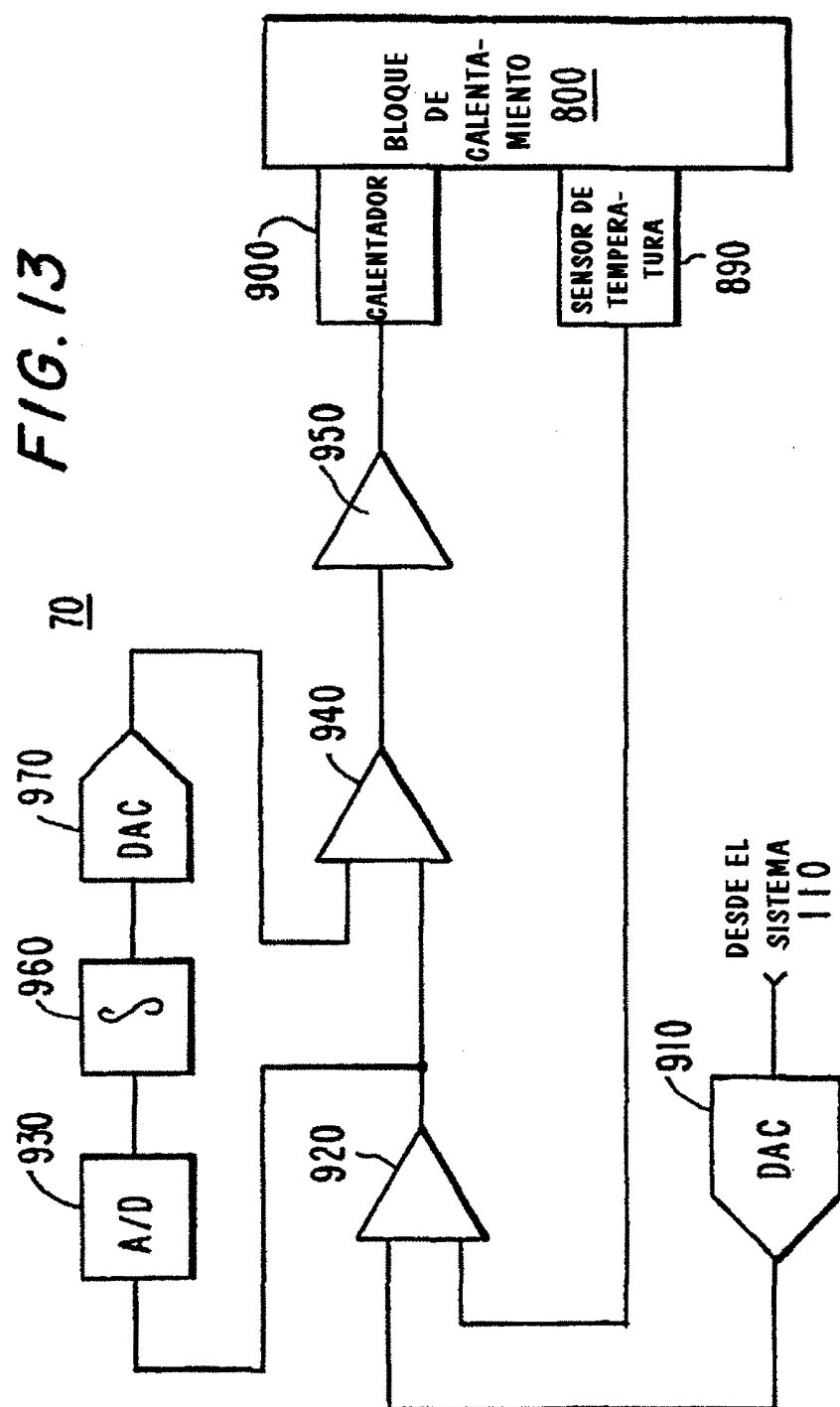


FIG. 12

FIG. 13



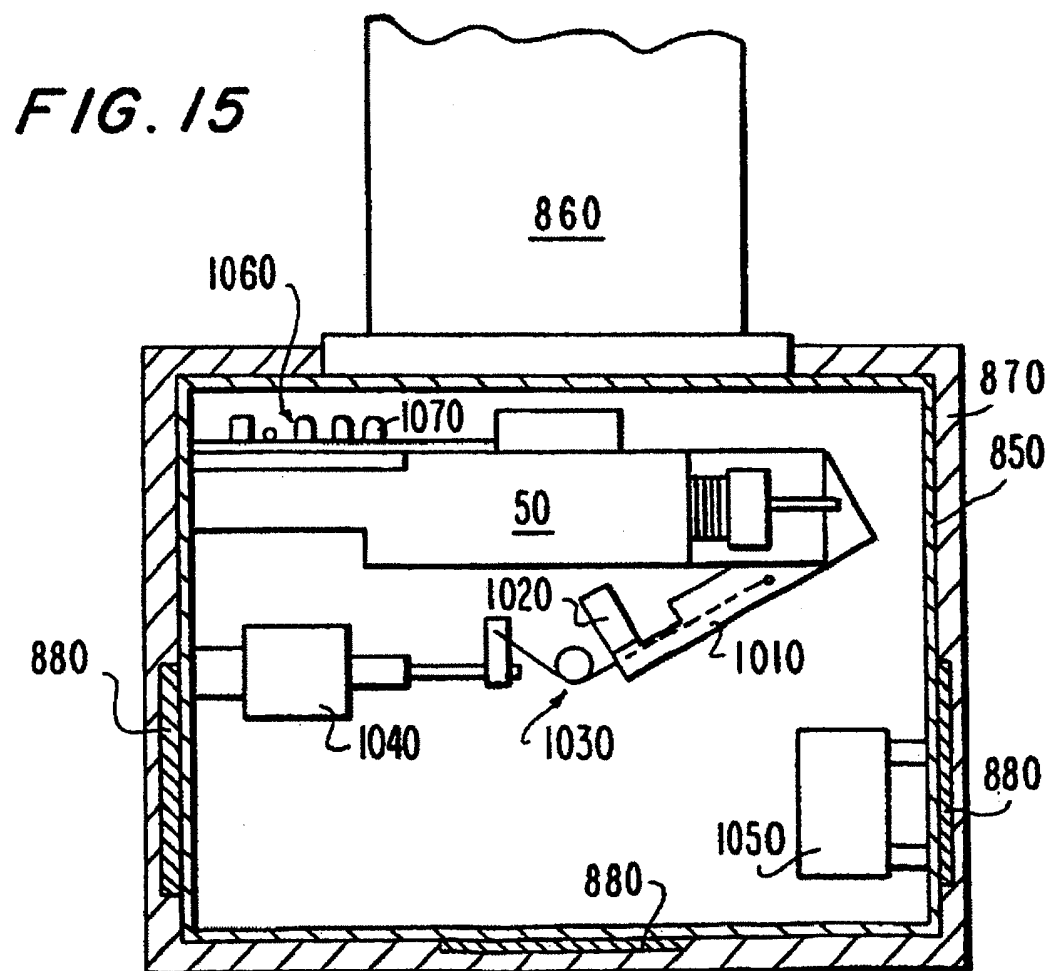
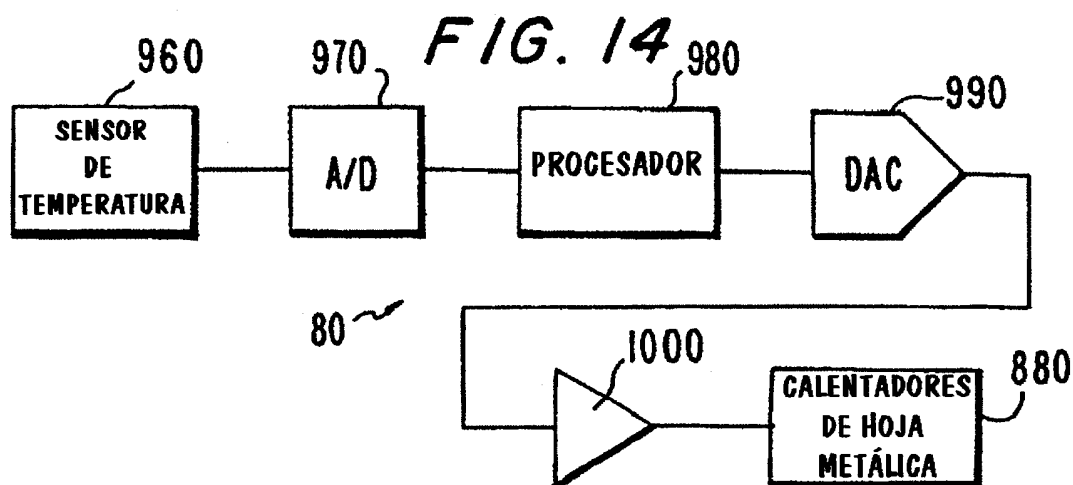


FIG. 16

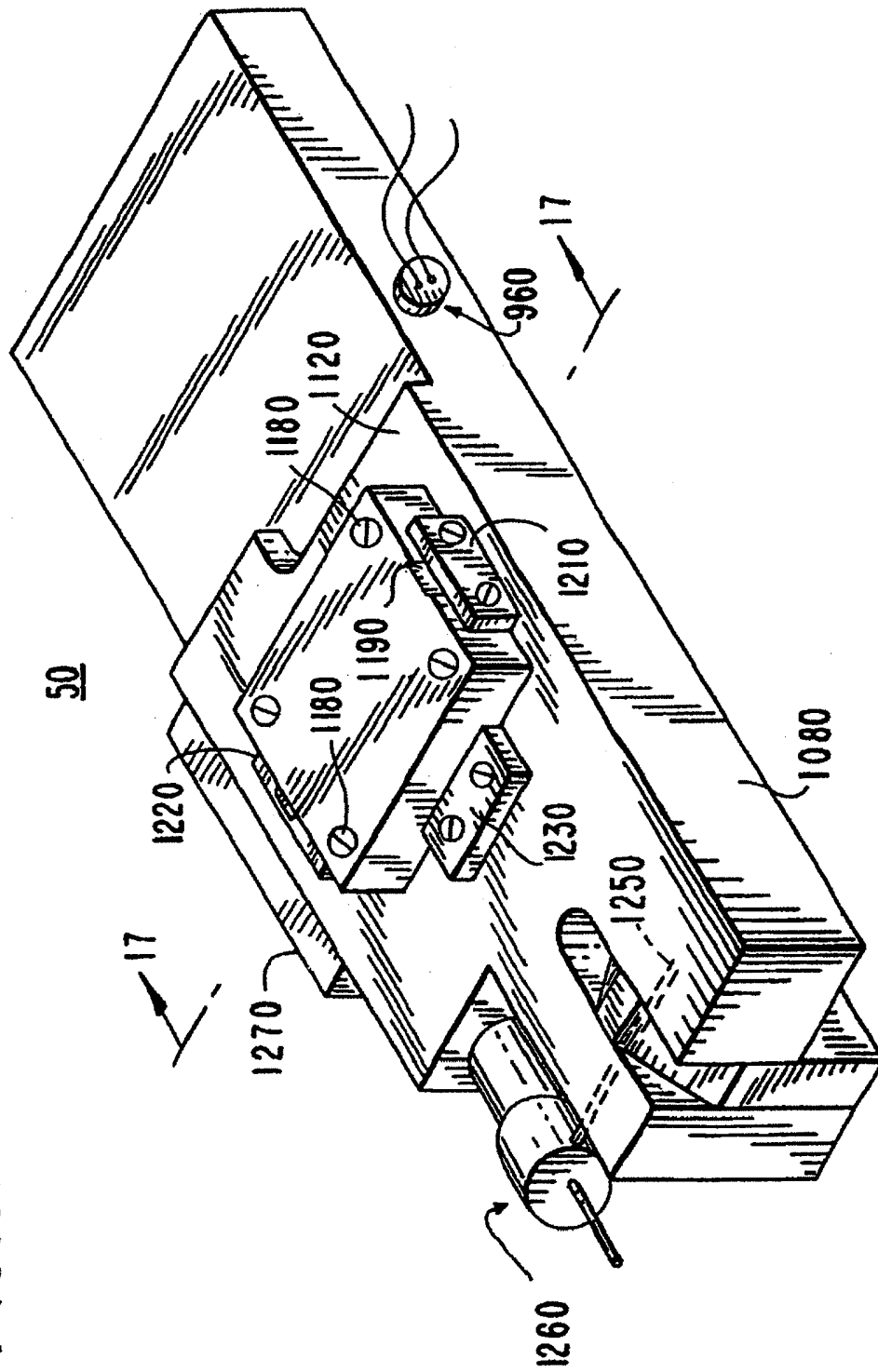


FIG. 17

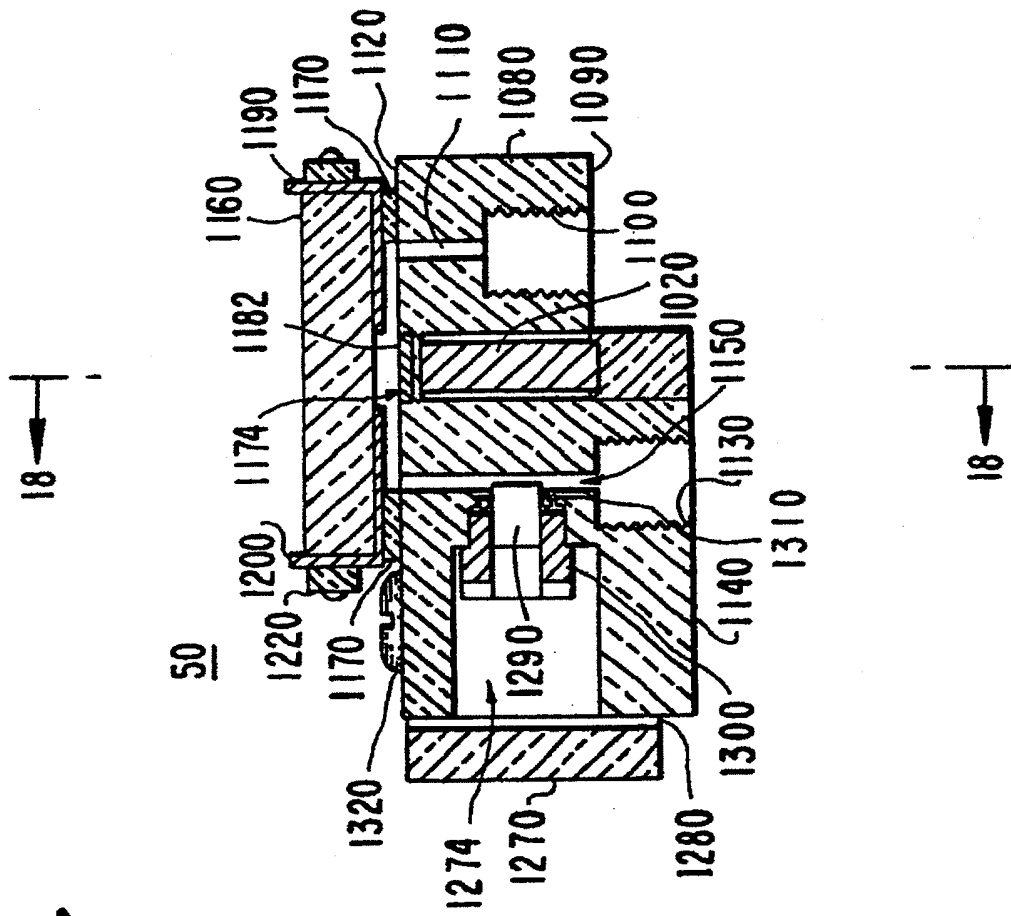


FIG. 18

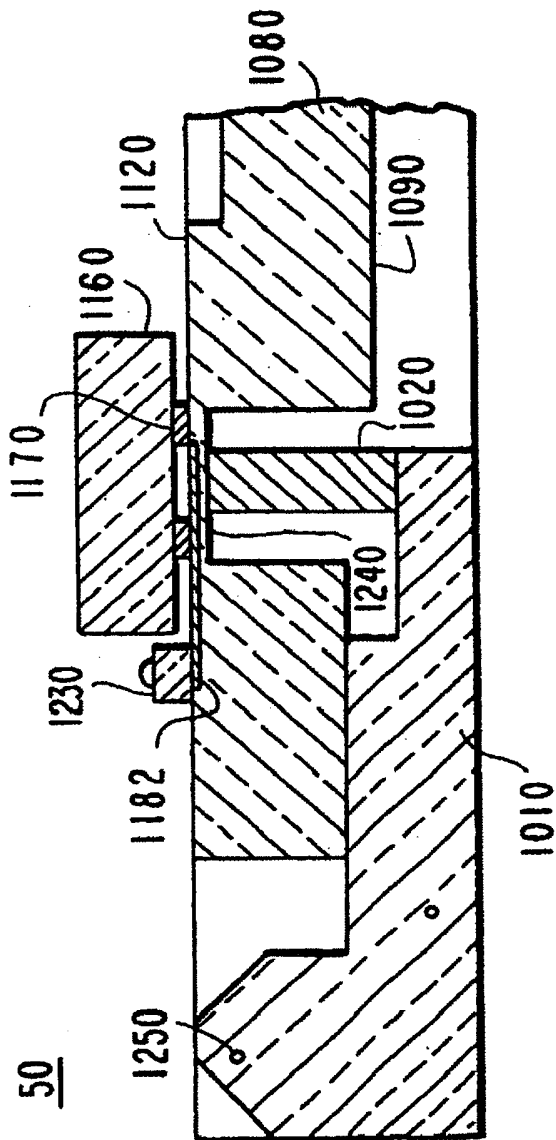
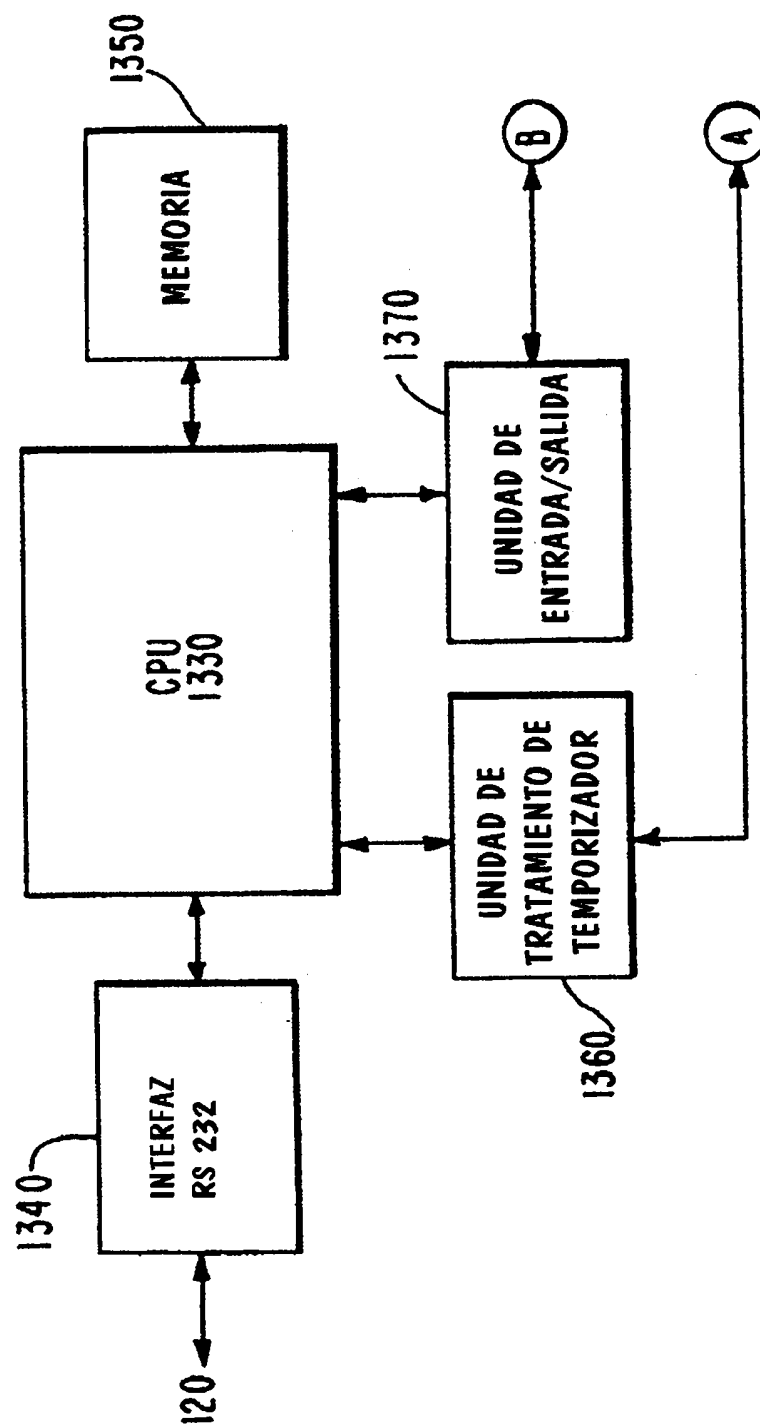
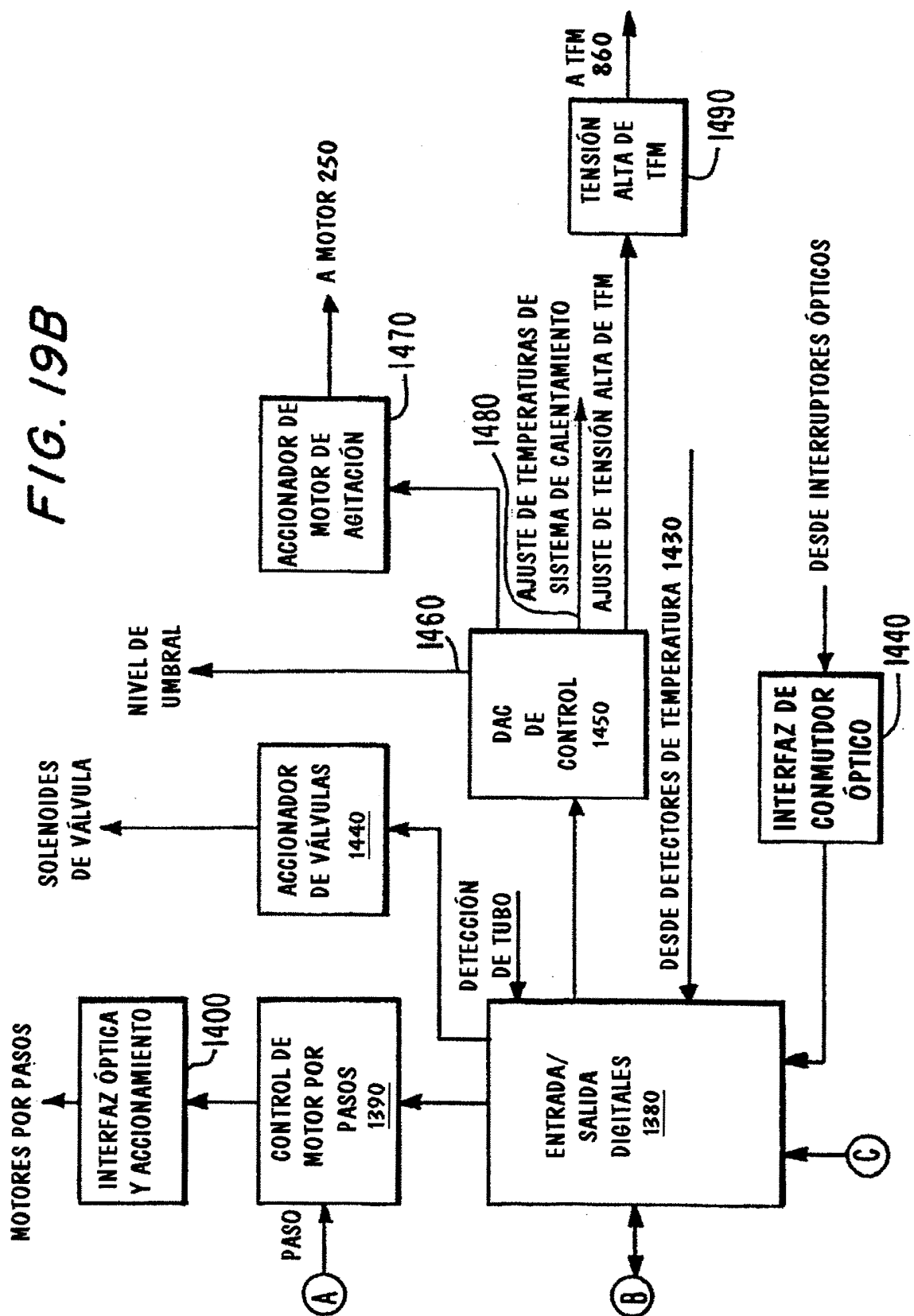


FIG. 19A





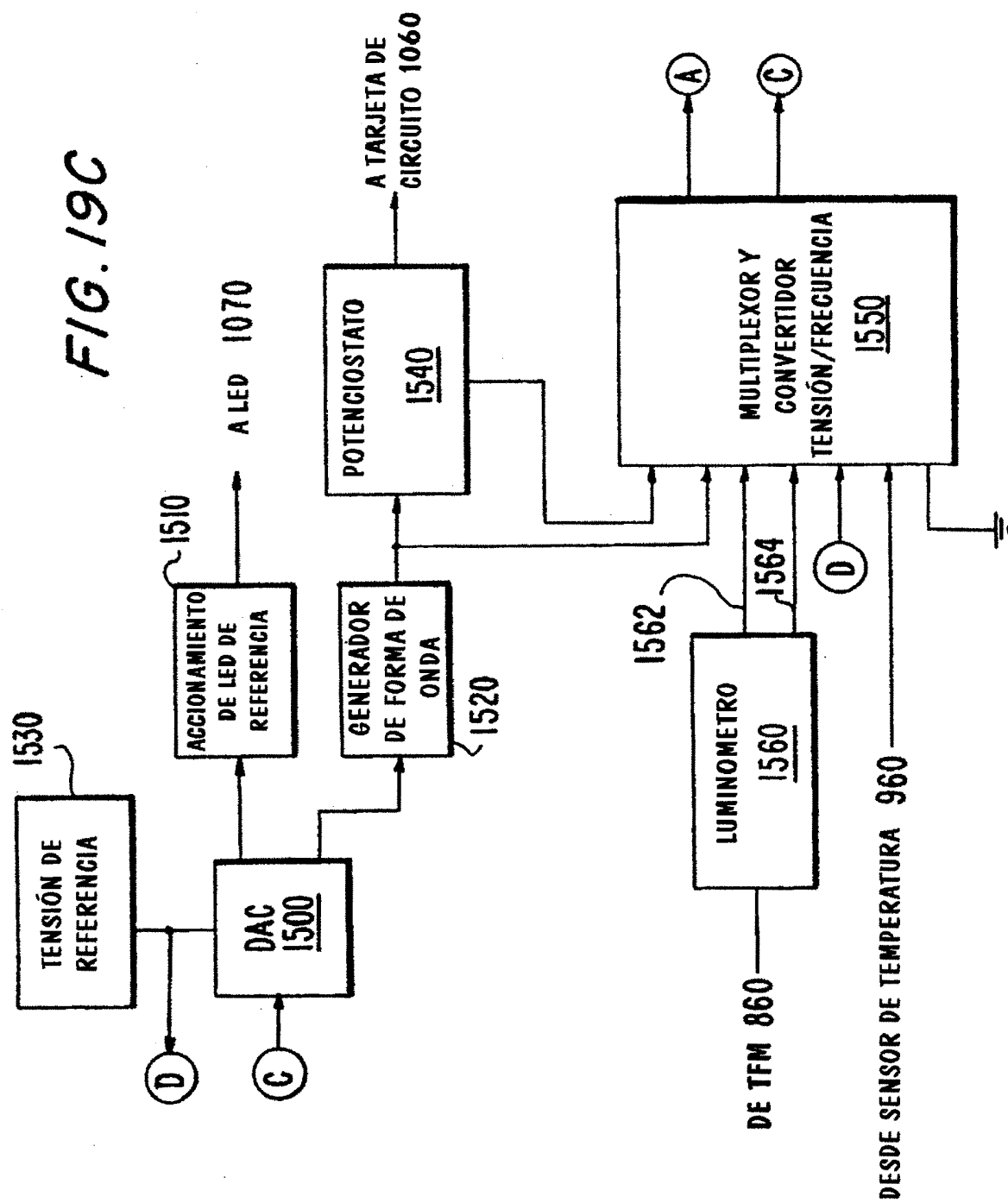
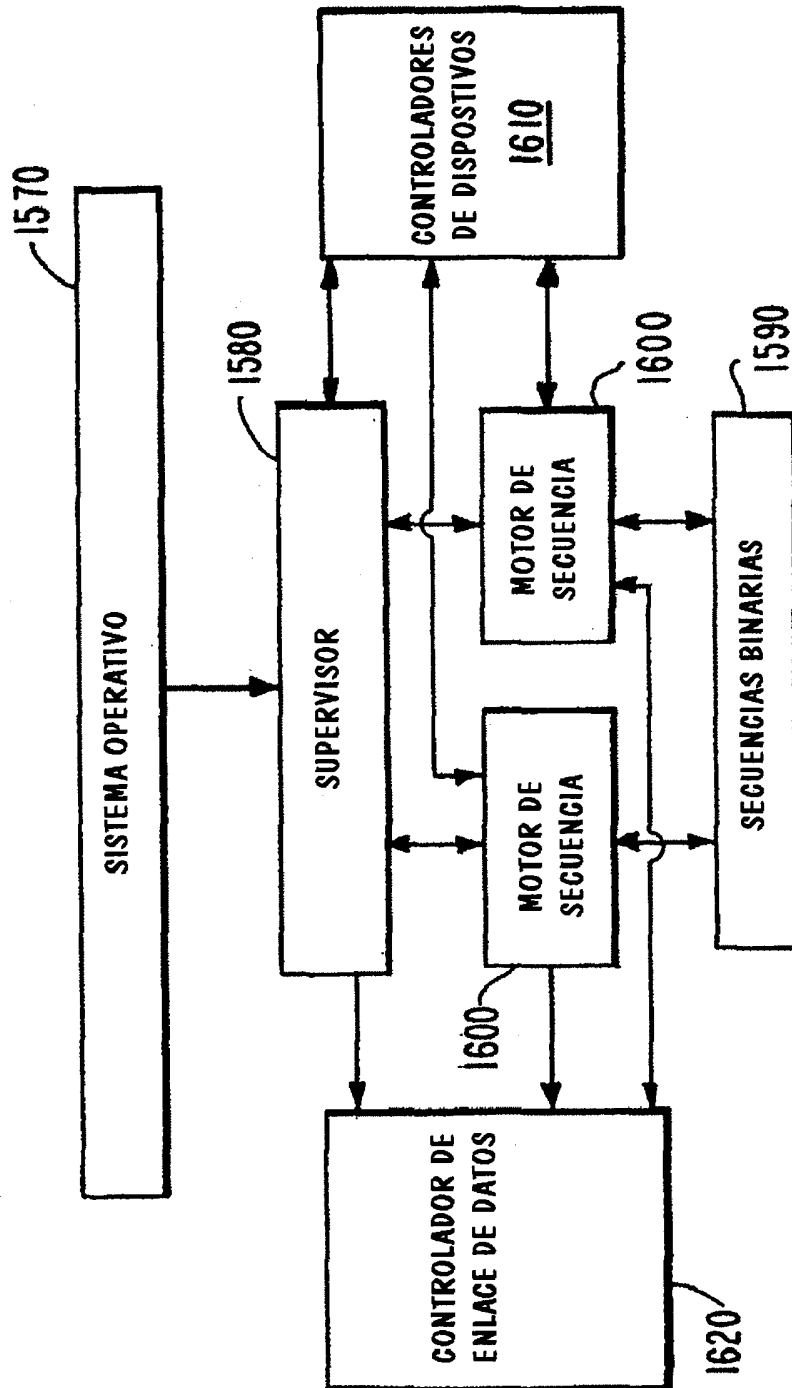
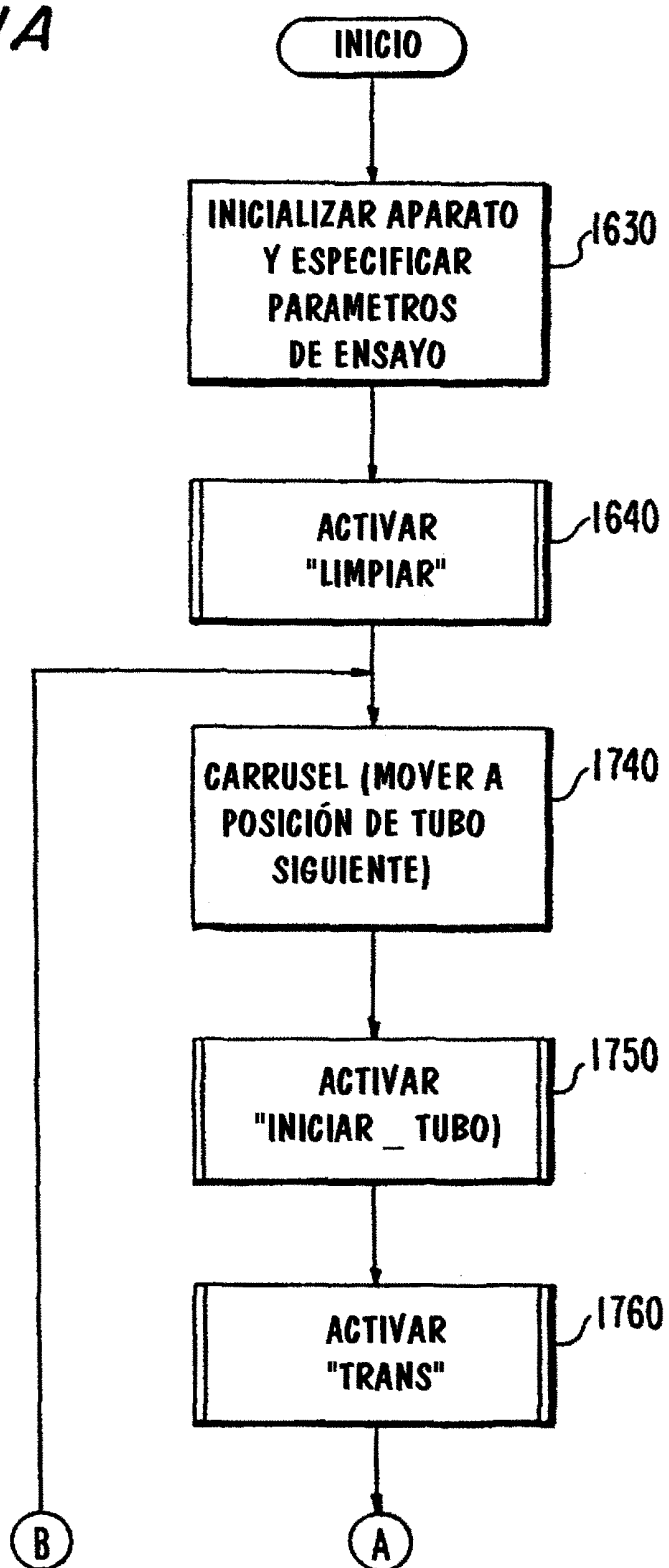
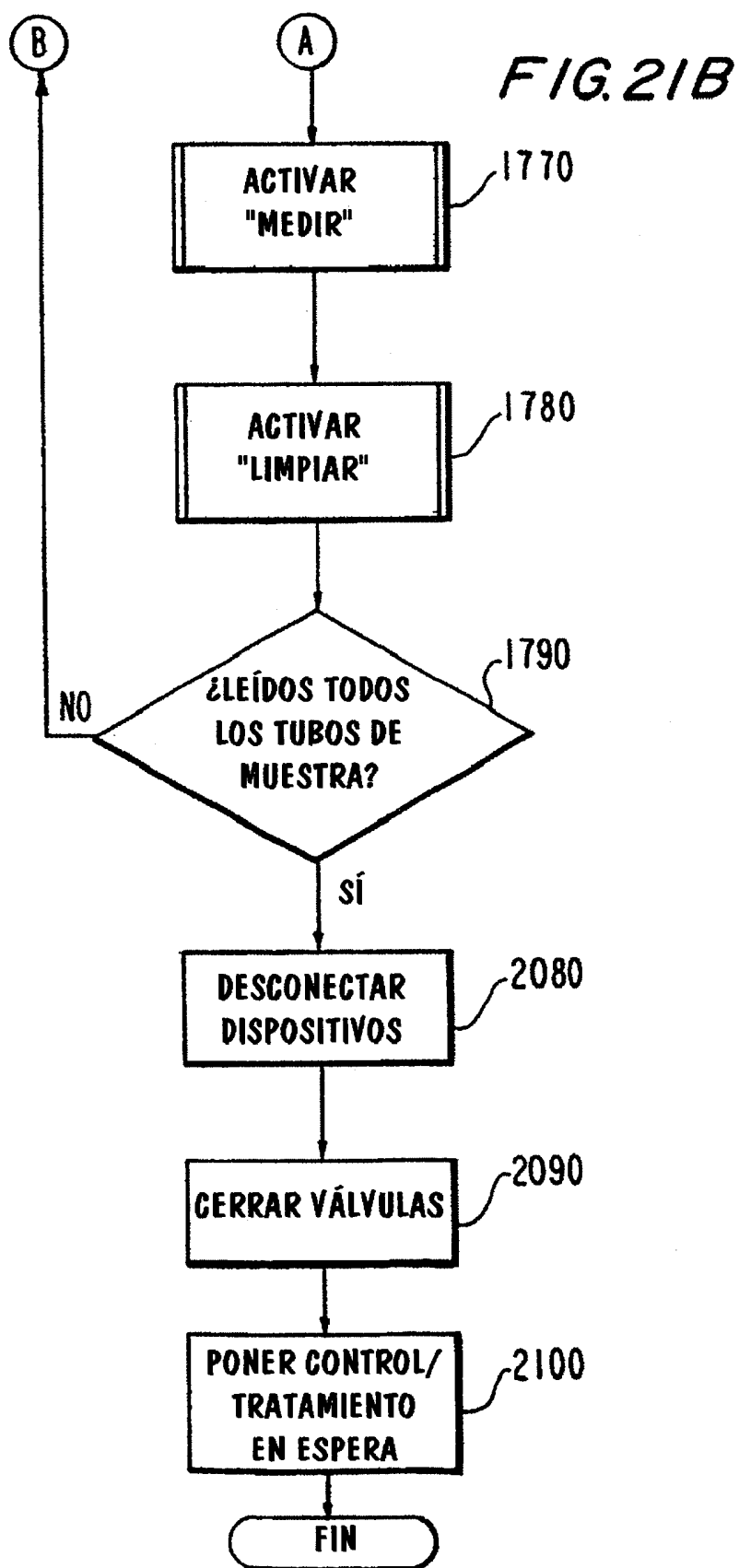


FIG. 20

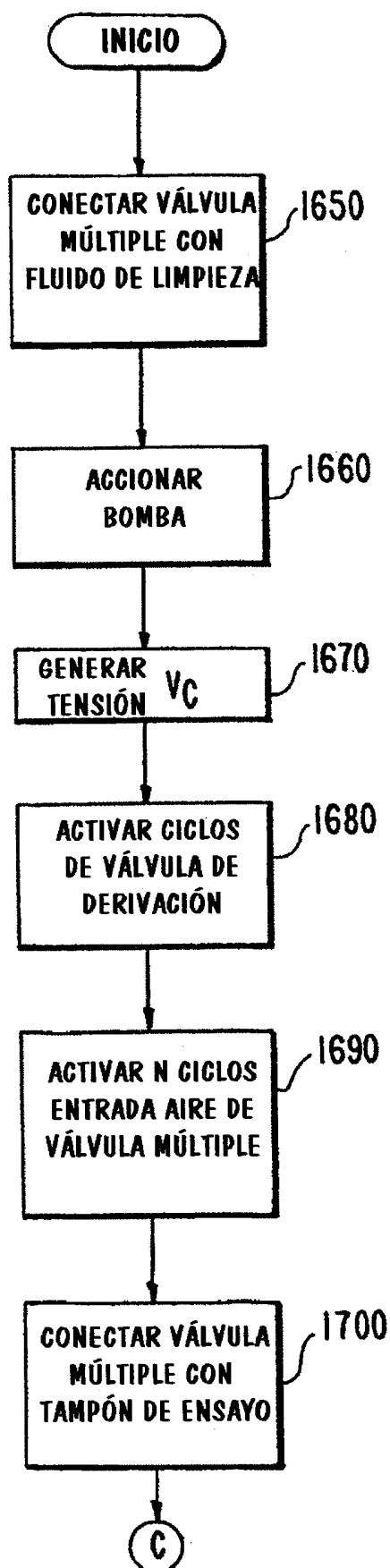


**FIG. 21A**

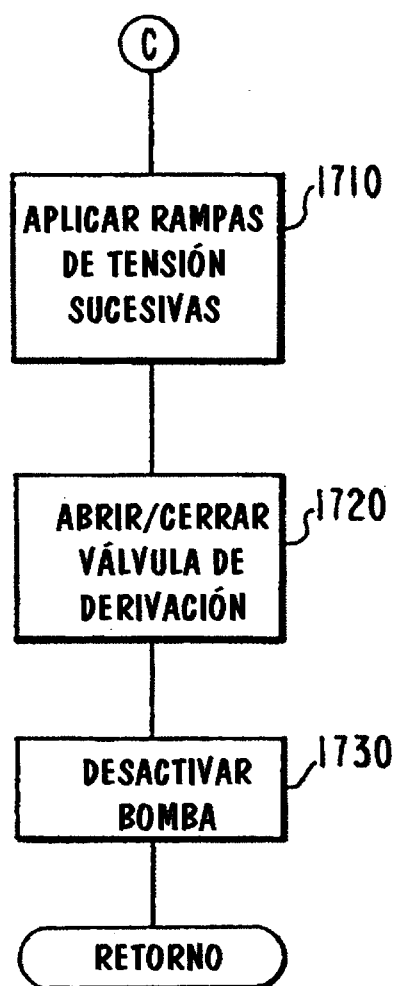


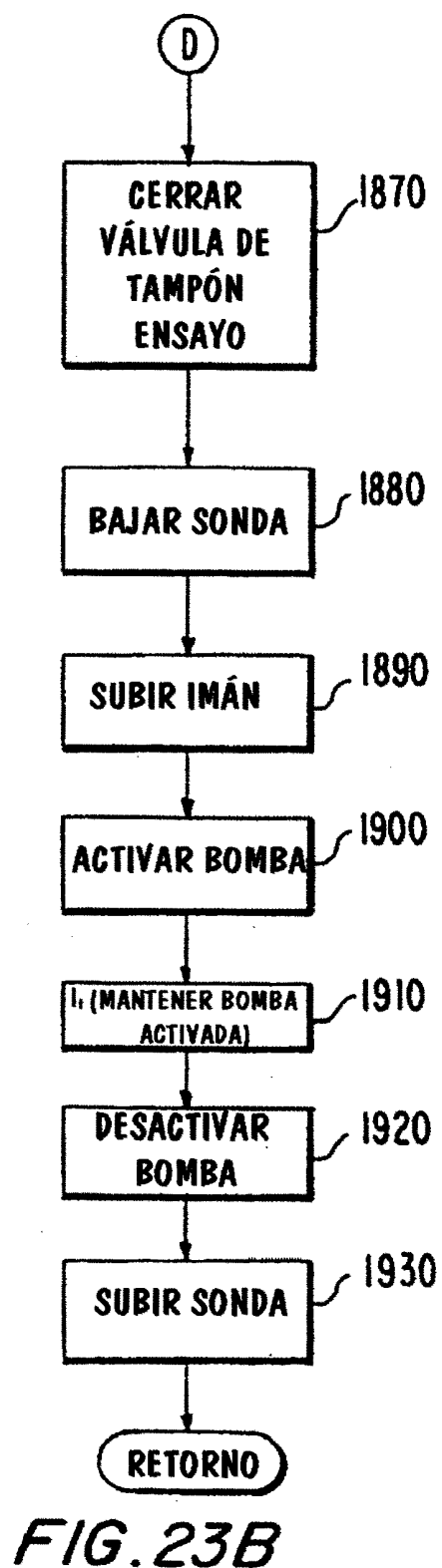
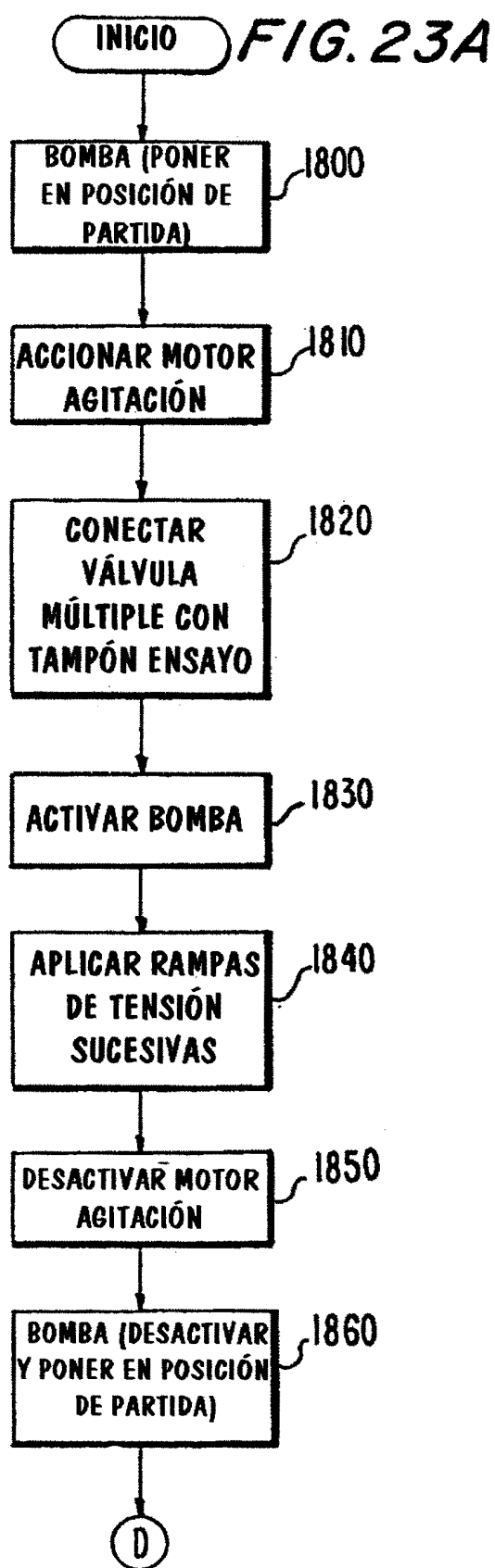


*FIG. 22A*

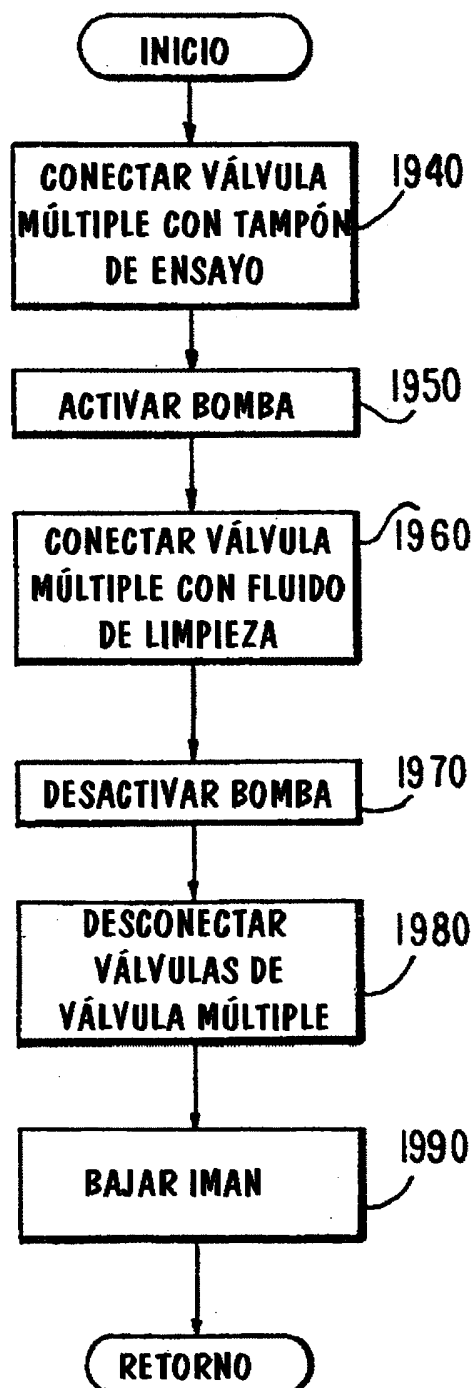


**FIG. 22B**





**FIG. 24**



**FIG. 25**

