



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 854 873**

⑮ Int. Cl.:

**G01N 35/00** (2006.01)  
**B01L 3/00** (2006.01)

⑫

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.02.2012** PCT/US2012/025270

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **18.07.2013** WO13105986

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.02.2012** E 12865280 (7)

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.12.2020** EP 2676136

⑭ Título: **Dispositivos, sistemas y procedimientos para la evaluación de la hemostasia**

⑩ Prioridad:

**15.02.2011 US 201161443088 P**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**23.09.2021**

⑬ Titular/es:

**HEMOSONICS, LLC (100.0%)**  
310 4th Street NE, Suite 104  
Charlottesville, Virginia 22902, US

⑭ Inventor/es:

**VIOLA, FRANCESCO;**  
**WALKER, WILLIAM H.;**  
**BROWNE, GREGORY V.;**  
**MAGYAR, ROBERT S.;**  
**HANSEN, BJORNE y**  
**DENNY, CHRISTOPHER G.**

⑭ Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PESES, Gustavo Adolfo**

**ES 2 854 873 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

Dispositivos, sistemas y procedimientos para la evaluación de la hemostasia

### **Referencia cruzada con solicitudes relacionadas**

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de los Estados Unidos n.º 61/443.088, presentada el 15 de febrero de 2011.

### **Campo técnico**

La presente solicitud se refiere a dispositivos, sistemas y procedimientos para evaluar la hemostasia en un sujeto mediante el análisis de una muestra de ensayo del sujeto para determinar uno o más índices de hemostasia.

### **Antecedentes**

10 La hemostasia, el control fisiológico de la hemorragia, es un proceso complejo que comprende la vasculatura, las plaquetas, los factores de coagulación (FI-FXIII), las proteínas fibrinolíticas y los inhibidores de la coagulación. La alteración de la hemostasia juega un papel fundamental en la ocurrencia de infarto de miocardio, ictus, embolia pulmonar, trombosis venosa profunda y hemorragia excesiva. En consecuencia, el diagnóstico *in vitro* (DIV) son sumamente necesarios para cuantificar la disfunción hemostática y dirigir el tratamiento apropiado. Esta necesidad es 15 especialmente aguda durante las cirugías cardíacas que requieren bypass cardiopulmonar (BCP), en las que la hemorragia posquirúrgica es una complicación común que requiere transfusión de hemoderivados.

20 Los DIV existentes incluyen ensayos bioquímicos de punto final, ensayos de agregación plaquetaria y sistemas de medición viscoelástica de coágulos. Los ensayos bioquímicos de punto final, como el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial (TTP), se utilizan ampliamente para evaluar la coagulación. Sin embargo, estos ensayos miden solo una parte del proceso hemostático y operan en condiciones no fisiológicas que incorporan solo la función del plasma. Como resultado de estas limitaciones, a menudo ocurren complicaciones como la hemorragia posoperatoria a pesar de las mediciones de TP y TTP perioperatorias normales.

25 El tiempo de coagulación activada (TCA) es un ensayo de punto final que se aplica con mayor frecuencia en apoyo del BCP. Este ensayo aplica una fuerte iniciación de la vía de activación superficial (intrínseca) para cuantificar la heparinización. Las limitaciones del TCA incluyen su falta de utilidad para la función plaquetaria, la lisis y la cinética de la coagulación además del uso de grandes alícuotas de sangre completa (SC) (generalmente 2 ml) y partes mecánicas móviles. Por estas razones, el TCA se utiliza para la evaluación rápida de la heparinización y la reversión de protamina asociada con una utilidad limitada para aplicaciones adicionales.

30 Las plaquetas juegan un papel crucial en la progresión de la coagulación y en atajar la hemorragia arterial. Además, la teoría moderna de la hemostasia basada en células reconoce que las plaquetas desempeñan un papel modulador en la coagulación. La función plaquetaria se controla clínicamente a través de ensayos de laboratorio central y ensayos en el punto de atención (POC), que utilizan SC anticoagulada. Ambos enfoques están limitados porque utilizan la agregación plaquetaria como una aproximación de la función plaquetaria general. Además, al inhabilitar la coagulación, estos procedimientos no contemplan la interacción entre las plaquetas y la cascada de la coagulación.

35 Las técnicas que controlan las propiedades viscoelásticas de la SC, tales como la tromboelastografía (TEG) y el tromboelastómetro rotacional (ROTEM), eluden muchas de las limitaciones de los ensayos bioquímicos de punto final y los ensayos de agregación plaquetaria midiendo los efectos combinados de todos los componentes de la hemostasia. Se ha demostrado que la TEG diagnostica la hiperfibrinolisis en pacientes con hemorragia, indica los requisitos de transfusión mejor que los ensayos bioquímicos estándar y reduce los requisitos de transfusión durante el BPC cuando 40 se utiliza con algoritmos de transfusión. Si bien estos ensayos ofrecen información clínica valiosa, los dispositivos suelen ser complejos de operar y difíciles de interpretar. Asimismo, la TEG aplica tensiones de cizallamiento relativamente grandes, lo que transgrede el régimen viscoelástico no lineal, interrumpiendo así la formación de coágulos. Por estas razones, la TEG tiene una utilidad muy limitada como ensayo POC.

45 "A novel ultrasound-based method to evaluate hemostatic function of whole blood", Clinica Chimica Acta 411 (2010) 106-113, Francesco Viola, F. William Mauldin Jr., Xiefan Lin-Schmidt, Doris M. Haverstick, Michael B. Lawrence, William F. Walker, desvela la sonorreometría, que evalúa la función hemostática a partir de una pequeña muestra de sangre. La sonorreometría usa el fenómeno de la fuerza de radiación acústica para medir los cambios dinámicos en la viscoelasticidad durante la formación de los coágulos y la disolución de los coágulos.

50 El documento US 5.629.209 desvela un aparato para detectar cambios en la viscosidad de un fluido, que comprende un cartucho que tiene un depósito de recepción/dispensación de fluido, una o más cámaras de recepción de fluido y un conducto que permite la comunicación fluida entre el depósito de recepción/dispensación de fluido y el depósito de recepción de fluido.

El documento US2011034805 desvela procedimientos, aparatos y sistemas para caracterizar al menos una propiedad física de la sangre, generando una serie de pulsos acústicos y dirigiendo la serie de pulsos hacia la sangre de modo

que al menos uno de los pulsos sea de intensidad suficientemente alta para inducir el desplazamiento físico de la sangre. Se reciben y miden pulsos acústicos y/u ondas ópticas reflejadas desde la sangre, o un miembro flexible en contacto con la sangre que se mueve con la sangre, para estimar al menos una característica del desplazamiento físico inducido por esta.

- 5 El documento WO2011127436 desvela un sistema para mostrar una pluralidad de índices hemostáticos. El sistema incluye un receptor de comunicaciones configurado para recibir los índices hemostáticos y una interfaz gráfica de usuario (IGU) conectada al receptor de comunicaciones y para mostrar simultáneamente los índices hemostáticos. Los índices hemostáticos se derivan de una pluralidad de medidas independientes, tales como las medidas mecánicas determinadas utilizando los sistemas y procedimientos de sonorreometría.

10 **Sumario**

Se proporcionan sistemas y procedimientos para la evaluación de la hemostasia. De acuerdo con un aspecto de la invención se proporciona un dispositivo para la evaluación de la hemostasia como se reivindica en la reivindicación 1. En una realización, los reactivos se seleccionan del grupo que consiste en caolín, celite, vidrio, abciximab, citocalasina D, trombina, factor tisular recombinante, reptilasa, ácido araquidónico (AA), adenosina difosfato (ADP), y combinaciones de los mismos. Opcionalmente, los reactivos se liofilizan antes de interactuar con las muestras de ensayo.

15 El sistema comprende un transductor para transmitir ultrasonido a una o más cámaras y para recibir el sonido reflejado desde la cámara y la muestra de ensayo en su interior. El sistema comprende además al menos un procesador configurado para determinar un parámetro de hemostasia a partir del sonido recibido. Los parámetros se seleccionan opcionalmente del grupo que consiste en TC1, TC2, rigidez del coágulo, tasa de formación de coágulos (CFR), TL1 y TL2. El procesador está opcionalmente configurado además para determinar un índice de factores de coagulación de la vía intrínseca, un índice de factores de coagulación de la vía extrínseca, un índice de plaquetas, un índice de fibrinógeno y un valor de índice de fibrinólisis. Los factores de coagulación intrínsecos y extrínsecos se combinan opcionalmente para formar un índice de factores de coagulación.

20 25 De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11. Los parámetros se seleccionan opcionalmente del grupo que consiste en TC1, TC2, rigidez del coágulo, tasa de formación de coágulos (CFR), TL1 y TL2. Los procedimientos desvelados pueden incluir además determinar un índice de factores de coagulación de la vía intrínseca, un índice de factores de coagulación de la vía extrínseca, un índice de plaquetas, un índice de fibrinógeno y un valor de índice de fibrinólisis. Los factores de coagulación intrínsecos y extrínsecos se combinan opcionalmente para formar un índice de factores de coagulación. Los reactivos o combinaciones de los mismos se liofilizan opcionalmente antes de mezclarlos con la sangre.

30 Estas y otras características y ventajas de la presente invención resultarán más evidentes para los expertos en la materia al considerar la siguiente descripción detallada y los dibujos adjuntos, que describen las realizaciones preferidas y alternativas de la presente invención.

35 **Breve descripción de los dibujos**

Las Figuras 1A-G son ilustraciones esquemáticas de un cartucho de ejemplo para evaluar la hemostasia.

La Figura 2 es una ilustración esquemática de las trayectorias de los fluidos biológicos del cartucho de ejemplo de las Figuras 1A-G.

40 La Figura 3 es una ilustración esquemática de un sistema de procesamiento de ejemplo para su uso con el cartucho de ejemplo de las Figuras 1A-G.

La Figura 4 es una ilustración esquemática de una parte de un sistema para evaluar la hemostasia.

La Figura 5 es una ilustración esquemática de una parte de un sistema para evaluar la hemostasia.

45 La Figura 6A es una ilustración esquemática que muestra los pulsos acústicos N que se envían a una muestra de sangre para generar una fuerza. La deformación resultante se puede estimar a partir de los retrasos de tiempo relativos entre los ecos de retorno N.

La Figura 6B es un gráfico que muestra ejemplos de curvas de desplazamiento generadas dentro de una muestra de sangre. A medida que la sangre se coagula, se observa un desplazamiento reducido.

50 La Figura 6C es un gráfico que muestra los desplazamientos combinados para formar gráficos de rigidez relativa, que caracteriza el proceso hemostático. Los parámetros descritos en el panel se estiman a partir de los parámetros encontrados ajustando una curva sigmoidea.

La Figura 7 es un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento de ejemplo para estimar parámetros de hemostasia.

Las Figuras 8A-D son ilustraciones esquemáticas de un cartucho de ejemplo para evaluar la hemostasia.

Las Figuras 9A-C son ilustraciones esquemáticas de partes de un sistema para evaluar la hemostasia, incluidos los mecanismos de control de la presión.

5 Las Figuras 10A y 10B son ilustraciones esquemáticas de un patrón de flujo de muestra de ejemplo para su uso con los dispositivos y sistemas descritos y de un cartucho de ejemplo para evaluar la hemostasia.

La Figura 11 es un gráfico que muestra los datos del calentamiento de la sangre dentro de un cartucho de ejemplo para evaluar la hemostasia.

Las Figuras 12A-C son ilustraciones esquemáticas de ejemplo de mecanismos de focalización del sonido.

#### **Descripción detallada**

10 La presente invención se describirá ahora más detalladamente en lo sucesivo con referencia a las realizaciones específicas de la invención. De hecho, la invención puede realizarse de muchas formas diferentes y no debe interpretarse como limitada a las realizaciones expuestas en el presente documento; más bien, estas realizaciones se proporcionan para que esta divulgación satisfaga los requisitos legales aplicables.

15 Como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el", "la", incluyen los referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

La expresión "que comprende" y variaciones de la misma como se usa en el presente documento se usan como sinónimo del término "que incluye" y variaciones del mismo y son términos abiertos, no limitantes.

20 Como se usa en todo el documento, por "un sujeto" se entiende un individuo. El sujeto puede ser un vertebrado, más específicamente un mamífero (por ejemplo, un ser humano, caballo, cerdo, conejo, perro, oveja, cabra, primate no humano, vaca, gato, cobaya o roedor), un pez, un pájaro, un reptil o un anfibio. El término no denota una edad o sexo en particular.

25 Las Figuras 1A-G ilustran un cartucho 100 de ejemplo para su uso en la evaluación de la hemostasia en un sujeto. El cartucho 100 incluye una superficie frontal 101 y una superficie trasera 126. La Figura 1A muestra una vista frontal del cartucho 100 y la correspondiente superficie frontal 101. El cartucho incluye una entrada 102, también denominada en el presente documento puerto de entrada o puerto de acceso, tal como una tetilla, a través de la cual se puede introducir una muestra biológica del sujeto en el cartucho. Opcionalmente, se introduce una muestra de sangre del sujeto en el cartucho en la entrada 102. Otra muestra biológica que puede introducirse para análisis es el plasma. La entrada 102 está en comunicación fluida con un canal 202, que se muestra en la Figura 2, y que dirige la muestra biológica a otras partes del cartucho como se describe en el presente documento.

30 El cartucho incluye además un puerto 106 para aplicar vacío al cartucho. Cuando se aplica vacío en el puerto 106, el fluido biológico introducido a través de la entrada 102 en el canal 202 es impulsado a lo largo del canal 202 hacia el puerto 106.

35 Como se muestra en la Figura 2, al moverse entre la entrada 102 y el puerto 106, el fluido biológico, o una parte del mismo, se mueve a lo largo del canal 202, en el canal 204, el canal 206 y a lo largo de los canales 208, 210, 212 y 214. Cada uno de los canales 208, 210, 212 y 214 están en comunicación fluida con una cámara de ensayo, también denominada en el presente documento, por ejemplo, cámara, pocillo o pocillo de ensayo o similares. Por ejemplo, como se ilustra en la figura 2, el canal 208 está en comunicación fluida con una cámara de ensayo 116, el canal 210 está en comunicación fluida con una cámara de ensayo 114, el canal 212 está en comunicación fluida con una cámara de ensayo 112 y el canal 214 está en comunicación fluida con una cámara de ensayo 110.

40 Refiriéndose nuevamente a la Figura 1, cada cámara de ensayo comprende un espacio abierto 124 definido por una parte de la superficie trasera 126. La Figura 1B muestra una ilustración en sección transversal a través de la cámara de ensayo 116 tomada a lo largo de la línea B-B de la Figura 1A. La Figura 1C muestra una ilustración en sección transversal tomada a lo largo de la línea C-C de la Figura 1A. La Figura 1F muestra una vista ampliada de la parte encerrada en un círculo de la Figura 1B. Asimismo, la Figura 1D muestra una ilustración en sección transversal tomada a lo largo de la línea D-D de la Figura 1A, que ilustra el espacio abierto de cada una de las cuatro cámaras de ensayo.

45 Cada cámara de ensayo está configurada para aceptar una cantidad del fluido biológico en el espacio abierto. En referencia a la cámara de ensayo 116, ilustrada en detalle en la Figura 1F, una parte del fluido biológico introducido en la entrada 102 se mueve a través de los canales 202, 204 y 214 hasta el espacio abierto 124 de la cámara de ensayo 116.

50 El fluido biológico también puede salir de cada cámara de ensayo respectiva y continuar a lo largo de un canal de salida 130 hacia el puerto 106. Por tanto, el fluido introducido en la entrada 102 fluye al vacío a través de los canales del dispositivo y hacia las cámaras de ensayo. Desde cada cámara de ensayo (110, 112, 114, 116), el fluido biológico continúa fluyendo a lo largo de los canales de salida hacia el vacío.

5 Cerca del puerto 106, cada canal de salida puede dirigir el fluido biológico que fluye hacia un filtro hidrófobo en las ubicaciones 222, 220, 218 y 216, respectivamente. Los filtros o el filtro evitan el movimiento del fluido biológico fuera del cartucho 100 en el puerto 106. Debido a que el volumen de los canales y la cámara de ensayo son fijos, el vacío puede empujar el fluido biológico hacia el cartucho hasta los canales y cada cámara de ensayo está llena del fluido biológico.

10 La presión se puede controlar en el cartucho 100 para, por ejemplo, controlar el caudal dentro del consumible 100 y para mitigar los problemas de fiabilidad relacionados con un posible mal uso por parte del usuario. Para medir las propiedades de una muestra biológica objetivo, tal como una muestra de sangre, un usuario del sistema de hemostasia conecta opcionalmente una jeringa llena de sangre a la unidad de cartucho 100. Existe la posibilidad de que el usuario del sistema de hemostasia 300 (véase la Figura 3) pueda intentar inyectar el contenido de la jeringa aplicada en el cartucho 100 manualmente, en lugar de permitir que el dispositivo aspire automáticamente la muestra. Esta acción puede provocar un error de medición o del sistema. Se utiliza un dispositivo de control de la presión en la trayectoria de flujo de los consumibles para evitar esta acción del usuario.

15 La mezcla inadecuada de la muestra biológica con los reactivos descritos en el presente documento puede dar como resultado la variación de las mediciones de la hemostasia. La aspiración rápida de la muestra de sangre se usa opcionalmente para proporcionar una mayor mezcla de los reactivos con la muestra biológica, tal como una muestra de sangre. Esto se logra opcionalmente creando una diferencia de presión entre el cartucho y el mecanismo de aspiración del sistema de hemostasia.

20 En este sentido, las Figuras 9A-C ilustran tres configuraciones de ejemplo que pueden usarse para controlar la diferencia de presión entre el cartucho y el mecanismo de aspiración y, por lo tanto, pueden usarse para lograr los niveles deseados de mezcla y reducir los errores del usuario.

25 La figura 9A ilustra esquemáticamente un sistema 900 de ejemplo para controlar la presión en un cartucho 100. El cartucho incluye cuatro cámaras de ensayo (110, 112, 114 y 116). Cada cámara de ensayo incluye opcionalmente un reactivo y el funcionamiento del sistema hace que una muestra biológica entre en una o más cámaras de ensayo. El sistema de ejemplo 900 incluye una bomba de dos vías 908 que funciona para aspirar una muestra biológica, tal como una muestra de sangre. Por ejemplo, se puede aspirar una muestra de sangre al cartucho desde un recipiente de muestra 902. La bomba 908 está en comunicación fluida con el cartucho 100 y, por lo tanto, se puede usar la activación de la bomba para mover la muestra biológica a través del cartucho 100. Un transductor de presión 904 está en comunicación con la bomba que mide la presión manométrica extraída por la bomba 908. Una válvula 906 accionada por solenoide opera para bloquear el flujo corriente abajo de la bomba permitiendo que se acumule la presión manométrica. El solenoide puede accionarse selectivamente para exponer rápidamente el gradiente de presión al cartucho. Se deja que la muestra avance a través del cartucho y opcionalmente se recoge en un recipiente de muestra 910.

30 La Figura 9B ilustra esquemáticamente otro sistema 920 de ejemplo para controlar la presión en un cartucho 100. El cartucho incluye cuatro cámaras de ensayo (110, 112, 114 y 116). Cada cámara de ensayo incluye opcionalmente un reactivo y el funcionamiento del sistema hace que una muestra biológica entre en una o más cámaras de ensayo. El sistema de ejemplo 920 incluye una bomba de dos vías 908 que funciona para aspirar una muestra biológica, tal como una muestra de sangre. Por ejemplo, se puede aspirar una muestra de sangre al cartucho desde un recipiente de muestra 902. La bomba 908 está en comunicación fluida con el cartucho 100 y, por lo tanto, se puede usar la activación de la bomba para mover la muestra biológica a través del cartucho 100. Una membrana 912 activada por presión se coloca corriente arriba o corriente abajo del cartucho 100 desde la bomba 908. La membrana 912 está configurada para romperse a una presión manométrica predeterminada del cartucho controlando así la presión a la que se extrae la muestra a través del cartucho. Se deja que la muestra avance a través del cartucho y opcionalmente se recoge en un recipiente de muestra 910.

35 La Figura 9C ilustra esquemáticamente otro sistema 930 de ejemplo para controlar la presión en un cartucho 100. El cartucho incluye cuatro cámaras de ensayo (110, 112, 114 y 116). Cada cámara de ensayo incluye opcionalmente un reactivo y el funcionamiento del sistema hace que una muestra biológica entre en una o más cámaras de ensayo. El sistema de ejemplo 930 incluye una bomba de dos vías 908 que funciona para aspirar una muestra biológica, tal como una muestra de sangre. Por ejemplo, se puede aspirar una muestra de sangre al cartucho desde un recipiente de muestra 902. La bomba 908 está en comunicación fluida con el cartucho 100 y, por lo tanto, se puede usar la activación de la bomba para mover la muestra biológica a través del cartucho 100. Una válvula 916 accionada por bucle cerrado contiene un mecanismo de control de presión interno y se usa para bloquear el flujo corriente abajo de la bomba permitiendo que la presión manométrica se acumule hasta un punto de ajuste de la presión de la válvula. Una vez que se alcanza el punto de ajuste de la presión manométrica, la válvula 916 se despliega exponiendo así el cartucho a un gradiente de presión deseado. Se deja que la muestra avance a través del cartucho y opcionalmente se recoge en un recipiente de muestra 910.

40 El nivel de la muestra en cada cámara también se puede monitorizar. Por ejemplo, como se muestra en las Figuras 8A-8D, el nivel de fluido en cada cámara se puede monitorizar ópticamente. La Figura 8A es una ilustración esquemática de un ejemplo de cartucho consumible colocado en un sistema de evaluación de la hemostasia de ejemplo. La Figura 8B es una ilustración esquemática de una sección transversal tomada a lo largo de la línea B-B de

la Figura 8A. La Figura 8C es una ilustración esquemática ampliada de la parte encerrada en un círculo de la Figura 8B. La Figura 8D es una ilustración esquemática de un ejemplo de cartucho consumible.

Si se ha alcanzado el nivel deseado en una cámara determinada, se puede indicar mediante un LED u otro indicador visual. El empleo de un solo haz de luz procedente de un emisor de LED 802 que se refleja desde la cámara hasta un depósito 224 objetivo de detección de sangre, que a continuación es detectado por un detector 800, puede usarse opcionalmente para monitorizar ópticamente el nivel de fluido de la cámara.

Por ejemplo, la sangre que entra en una cámara de ensayo reduce la reflexión de la luz que se origina en un emisor 802 ubicado junto al detector 800 y dirigido a la cámara de ensayo. Se puede utilizar un enfoque de doble haz mediante el cual dos fuentes de diferentes longitudes de onda se reflejan de la cámara de ensayo. La sangre tiene un color rojo intenso que se puede diferenciar comparando el reflejo de la longitud de onda del rojo con el de otro color.

La diferencia de intensidad de la luz roja reflejada por sí sola es suficiente para determinar cuándo ha entrado sangre en una cámara. La intensidad de la luz roja reflejada desde la cámara de ensayo que contiene sangre fue aproximadamente la mitad de la del pocillo que contiene aire y aproximadamente dos tercios de la del pocillo que contiene agua.

Para controlar la temperatura de la muestra biológica que entra en las cámaras de ensayo, el cartucho 100 puede comprender un intercambiador de calor en comunicación con el canal 204. El intercambiador de calor puede usarse para mantener, elevar o bajar la temperatura del fluido biológico antes del análisis en cada cámara de ensayo. Opcionalmente, la temperatura del fluido biológico para el análisis en cada cámara de ensayo es la misma, de modo que la parte común del sistema de canales, como se muestra en la figura 2, está sujeta a la manipulación de la temperatura por parte del intercambiador de calor. Opcionalmente, en las realizaciones que no se muestran en imágenes, la temperatura del fluido biológico que entra en cada cámara de ensayo se puede controlar por separado.

Por ejemplo, para calentar el fluido biológico, éste se puede hacer pasar a través del canal 204 por un laberinto de poliestireno sostenido contra un bloque de cobre. El bloque de cobre puede ser delgado (por ejemplo, menos de 2 mm) y de un tamaño un poco más grande que el laberinto para minimizar la masa térmica. Se puede incrustar un termistor en el bloque para que un circuito de control pueda mantener una temperatura establecida estable en el bloque. Se usa un calentador que opcionalmente comprende dos elementos calefactores de lámina serpentina Watlow® (St. Louis, MO) unidos a un sustrato de plástico Kapton flexible, y la interfaz entre el bloque y el calentador puede ser una capa delgada de compuesto disipador térmico de silicona.

Se pueden usar varios caudales, por ejemplo, hasta e incluyendo 5,99 ml/min o 6,0 ml/min, y la entrada de energía al calentador se puede variar opcionalmente entre 8 y 16 vatios. La sangre u otro fluido biológico se puede calentar en el cartucho desde temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) hasta 37 °C a un caudal nominal de 6 ml/min, que es lo suficientemente rápido como para llenar el cartucho en 20 segundos. La superficie del laberinto utilizado fue inferior a 8 cm<sup>2</sup>.

Fisiológicamente, el proceso de coagulación depende en gran medida de la temperatura a la que tiene lugar. En condiciones normales, la coagulación se produce a la temperatura corporal (37 °C), la cual es óptima para la adecuada acción enzimática de los factores de coagulación en la cascada.

La sangre se puede calentar desde su temperatura de entrada, que varía entre 18 °C y 37 °C, hasta una temperatura arbitraria o deseada, tal como la temperatura corporal, de 37 °C pasando a través de un canal en forma de serpentina muy cerca de un bloque calefactor. Para lograr el calentamiento en poco tiempo en un recorrido corto, el bloque se puede calentar a casi 60 °C cuando la sangre entrante está en el extremo inferior de su intervalo de temperatura. La temperatura de la sangre también se puede medir y el bloque calefactor se puede ajustar opcionalmente a una temperatura, que varía de 40 °C a 58 °C.

Para medir la temperatura se puede incorporar un sensor en el sistema 300 (Figura 5) o en el cartucho. Opcionalmente, un termistor o termopar colocado en contacto físico con el cartucho o la sangre y un termómetro de infrarrojos apuntan al cartucho o la sangre. En cualquier caso, el cartucho puede incorporar un pequeño pocillo a través del cual pasa la sangre entrante, en lugar de tener contacto directo con la sangre. Cuando el material del cartucho (poliestireno) es delgado y la sangre se mantiene moviéndose a través del pocillo, entonces la mayor capacidad calorífica de la sangre asegura que la temperatura de la pared del pocillo sea cercana a la de la sangre. Opcionalmente, se utiliza una ventana que permite el paso de la radiación IR. La ventana puede comprender una capa delgada (por ejemplo, 20 µm o menos) de polietileno o poliestireno.

Los cambios de temperatura pueden ocurrir en el cuerpo debido a la fiebre o en entornos hospitalarios como en urgencias o en el quirófano. Los pacientes que llegan a urgencias son tratados con grandes volúmenes de solución salina intravenosa, lo cual reduce la temperatura corporal hasta 17 °C. En el quirófano, en los pacientes que se someten a cirugías de bypass cardíaco (BCP) se hace pasar todo el volumen de sangre a través de una máquina pulmón-corazón, lo que también reduce la temperatura de la sangre y puede afectar negativamente a la coagulación. Así mismo, si hay un lapso de tiempo entre el momento de la extracción de sangre y la medición, existe tiempo para que cambie la temperatura de la sangre.

El poliestireno Styron® 666 (Styron Inc. Berwyn, PA) y el canal 204 del intercambiador de calor de microfluidos permiten que una muestra de sangre se caliente mediante un bloque de cobre fuera del cartucho que se mantiene a una temperatura constante de 37 °C. Cuando una muestra entra en el cartucho a temperaturas sustancialmente inferiores a 37 °C, es opcionalmente deseable utilizar un cartucho modificado para permitir un calentamiento más rápido de la muestra biológica. Por ejemplo, en un modelo que simula los cambios de temperatura a lo largo del tiempo de la sangre que entra en el cartucho de poliestireno a 17 °C, se observó que Styron® 666 reduce la capacidad de calentar la sangre y la sangre que sale del intercambiador de calor no alcanza los 37 °C. Estas deficiencias de Styron® 666 se deben a su conductividad térmica relativamente baja. Cuando se desea un calentamiento más rápido o eficiente de la muestra biológica que sea posible mediante el Styron® 666, el cartucho puede incluir materiales con mayor conductividad térmica que Styron® 666. Por ejemplo, se puede usar un polímero termoconductor (E1201®) de Cool Polymers Inc. (North Kingstown, RI) con propiedades de conductividad térmica mejoradas. Este polímero puede formar una parte del cartucho entre el bloque de calentamiento y el canal 204. Al usar este polímero en una parte del cartucho entre el bloque de calentamiento y la muestra, la muestra se puede calentar de manera más eficiente. Por ejemplo, la FIG. 11 muestra que en un cartucho que comprende este material, la sangre que entra en el intercambiador de calor a 17 °C alcanza los 37 °C en 15 segundos.

Los cartuchos incluyen opcionalmente ambos materiales, El 201® y Styron® 666, para mejorar la transferencia de calor a la muestra con El 201® en el lado calentado mientras se mantiene la visibilidad del flujo en el otro lado del consumible con el Styron® 666. Otra alternativa consiste en usar El 201® como un componente de inserción que encaja sobre el calentador de cobre y en un chasis hecho de Styron® 666. Esto se logra opcionalmente moldeando las piezas separadas en una sola pieza o fijando el El 201® al chasis de Styron® mediante soldadura láser, ultrasónica o por RF. Cambiar la geometría del componente de inserción El 201® para que encaje en el chasis más grande como una pieza de un rompecabezas puede mejorar aún más el ensamblaje de las partes separadas y ayudar a sellar las cámaras de flujo de microfluidos.

También puede ser deseable enfriar el fluido biológico en el cartucho. En este ejemplo, y de manera similar a cuando se desea calentar, el cartucho puede incluir materiales con mayor conductividad térmica que Styron® 666. Por ejemplo, se puede usar el polímero termoconductor (E1201®), descrito anteriormente, con propiedades de conductividad térmica mejoradas. Este polímero puede formar una parte del cartucho entre un dispositivo de enfriamiento, tal como un dispositivo de enfriamiento Peltier, y el canal 204. Cuando se usa este polímero en una parte del cartucho entre el bloque de calentamiento y la muestra, la muestra se puede enfriar eficientemente.

Cada cámara de ensayo comprende uno o más reactivos útiles en el análisis de uno o más índices de hemostasia. Opcionalmente, los reactivos están liofilizados. Opcionalmente, se usa uno o más reactivos de tipo perla liofilizados. Por ejemplo, la perla liofilizada puede ser una LyoSphere® producida por BioLyph (Minnetonka, MN). Una perla liofilizada autónoma es un formato que permite que los reactivos inmunoquímicos y de química clínica que requieren dos o tres componentes que son incompatibles como líquidos debido a su nivel de pH o reacción entre sí, coexistan de manera compatible. Debido a que tales perlas liofilizadas son estables y no reactivas, los productos químicos se pueden empaquetar juntos en la misma cámara de ensayo.

Para producir reactivos liofilizados, se puede utilizar un dispositivo liofilizador. Por ejemplo, el reactivo para una cámara de ensayo determinado se puede congelar para solidificar todas sus moléculas de agua. Una vez congelado, el producto se coloca al vacío y se calienta gradualmente sin fundir el producto. Este procedimiento, denominado sublimación, transforma el hielo directamente en vapor de agua, sin pasar primero por el estado líquido. El vapor de agua que desprende el producto en la fase de sublimación se condensa como hielo en una trampa de recolección, conocida como condensador, dentro de la cámara de vacío del liofilizador. Opcionalmente, el producto liofilizado contiene un 3 % o menos de su contenido de humedad original. El producto liofilizado, que puede ser un gránulo, puede colocarse en cada cámara de ensayo. Una vez colocado en una cámara de ensayo, la cámara de ensayo se puede sellar para evitar la rehidratación no deseada del producto.

Para localizar los reactivos liofilizados en las cámaras de ensayo, primero se pueden liofilizar los componentes y luego se puede colocar el producto liofilizado resultante en las cámaras de ensayo. Usando pegamento epoxi de curado UV o un procedimiento de soldadura (como soldadura por ultrasonidos o por RF), el montaje de lente se sella sobre cada una de las cámaras de ensayo. El cartucho ensamblado se puede sellar en una barrera a prueba de vapor (por ejemplo, una bolsa) y la barrera de vapor se puede sellar para preservar la naturaleza deshidratada del producto en las cámaras de ensayo. Cuando esté listo para su uso, el cartucho puede retirarse de la bolsa o barrera de vapor y colocarse en un sistema de análisis 300, que se describe con más detalle a continuación.

El tratamiento antiestático de los cartuchos de plástico se utiliza opcionalmente con los reactivos liofilizados. Los reactivos liofilizados están inherentemente desprovistos de agua, lo que les otorga un aislamiento eléctrico significativo.

Los materiales que son aislantes eléctricos acumulan cargas estáticas más fácilmente que los materiales que actúan como conductores eléctricos. Esto puede crear problemas con el control del procedimiento al ensamblar los cartuchos y cargar los reactivos. Dado que los cartuchos están hechos opcionalmente de un material eléctricamente aislante (poliestireno, por ejemplo), no es probable que se disipe una carga estática acumulada dentro de los reactivos liofilizados. Como resultado, los reactivos liofilizados pueden adherirse estáticamente a las paredes interiores del

consumible. Para evitar que esto ocurra, se implementan opcionalmente tres técnicas para eliminar la acumulación de la carga estática.

La ionización del aire es un procedimiento que hace pasar aire ionizado dirigido sobre un material objetivo para neutralizar la carga estática residual en la superficie del material. Dirigir aire ionizado a una o más cámaras de ensayo de cartucho y/o los reactivos durante el procedimiento de ensamblaje mejora la capacidad de fabricación al reducir la adherencia de la perla de reactivo a las cámaras de ensayo de cartucho.

Un segundo procedimiento implementa la construcción del cartucho utilizando un material plástico que presenta una conductividad significativamente mayor que la de los materiales de moldeo por inyección estándar. Los plásticos RTP PermaStat® (Winona, MA) son un ejemplo de tales materiales. El uso de este material para el cartucho reduce la adhesión de los reactivos liofilizados a las paredes de la cámara de ensayo del cartucho.

En tercer lugar, se utilizan aerosoles líquidos antiestáticos para crear temporalmente una capa libre de polvo en lentes y equipos ópticos. Estos aerosoles reducen la carga estática en la superficie objetivo y son útiles para reducir la estática durante el procedimiento de ensamblaje del cartucho.

Cuando los reactivos liofilizados se exponen a la muestra de fluido, pueden generar espuma que flota en la superficie de la muestra en las cámaras de ensayo. Como se ilustra en las Figuras 10A y B, el cartucho consumible 1002 comprende opcionalmente un circuito fluido 202 que suministra la muestra desde un recipiente externo, tal como una jeringa o un tubo Vacutainer, a una o más cámaras de ensayo (110, 112, 114, 116) en las que se realizan las mediciones.

La Figura 10A muestra un circuito fluido de ejemplo que se puede implementar en un cartucho consumible 1002. Este circuito incluye un puerto de entrada 102, un canal 202, cuatro cámaras de ensayo (110, 112, 114, 116), un filtro 1004 y un puerto de salida 1006. La muestra biológica se puede administrar dentro de la cámara aplicando un vacío en el puerto de salida, permitiendo el filtro que el aire escape pero deteniendo el fluido. Se puede colocar una variedad de reactivos diferentes dentro de la cámara de ensayo, por ejemplo, como se describe en todo el documento. Para generar mediciones precisas, los reactivos se mezclan dentro de la muestra antes de iniciar el ensayo. Por ejemplo, el ultrasonido emitido en las cámaras de ensayo se puede utilizar para mezclar los reactivos con la muestra como se describe a continuación.

Como se ilustra en las Figuras 10A y 10B, para mejorar el mezclado de la espuma, una muestra de fluido biológico puede fluir a través del canal 202, que entra en la cámara de ensayo por el lado en una tangente a la cámara. Además, el cambio en el diámetro del canal de grande a pequeño aumenta la velocidad del flujo (conservación del caudal) en la entrada a la cámara de ensayo. Esta alta velocidad de flujo, en colaboración con la gravedad, ayuda a generar un patrón de flujo rotacional recirculante que mejora la mezcla y la dispersión del reactivo con la muestra. A medida que el flujo entra por el lateral, hace que cualquier espuma formada sea arrastrada hacia la corriente de flujo y empujada por debajo de la superficie.

La Figura 10B muestra un patrón de flujo implementado en un cartucho consumible diseñado para moldeo por inyección. El circuito fluido se ha repetido cuatro veces para suministrar la muestra y mezclar los reactivos en cuatro cámaras de ensayo diferentes. El circuito presentado en la Figura 10B también incluye un intercambiador de calor en forma de serpentina para ajustar la temperatura de la muestra entrante a un nivel deseado.

Los reactivos se mezclan con la muestra antes de iniciar el ensayo. La mezcla de los reactivos se puede lograr usando mecanismos pasivos y/o activos. Los procedimientos pasivos incluyen, por ejemplo, el uso de canales de serpentina y barreras incrustadas para crear turbulencias en el flujo. Los procedimientos activos incluyen, por ejemplo, perlas magnéticas, perturbación de la presión y cilios artificiales. El cartucho consumible contiene una lente que focaliza la energía ultrasónica dentro de la muestra que se puede usar para generar flujo y mezcla. La lente, también denominada en el presente documento montaje de lente, o montaje de focalización del sonido, está diseñada utilizando un material blando, tal como un elastómero termoplástico 134, junto con un sustrato rígido 132, tal como poliestireno. Esta combinación proporciona un acoplamiento de ultrasonido seco que no requiere el uso de ningún fluido o gel de acoplamiento. Hay que tener en cuenta que la misma lente y el controlador de ultrasonido que se utilizan para la medición de la hemostasia se pueden utilizar en este punto para proporcionar la mezcla. El aumento de la energía acústica para la mezcla se puede suministrar, por ejemplo, aumentando la longitud del pulso, la amplitud del pulso o la frecuencia de repetición del pulso.

La mezcla también puede ser proporcionada por un campo magnético variable aplicado por una serie de bobinas colocadas fuera de una cámara de ensayo o en cada cámara de ensayo. Se puede colocar una pequeña perla magnética o un agitador magnético dentro de una cámara de ensayo y cuando la muestra de fluido entra en la cámara, la corriente a través de las bobinas se puede modular para generar un campo magnético variable. Esto genera el movimiento de la perla magnética o del agitador magnético lo que a su vez genera la mezcla de la muestra con el reactivo.

La exposición de la sangre a las proteínas de superficie, tal como en el caso del colágeno o el factor von Willebrand (vWF) en las paredes de los vasos sanguíneos dañados, es una parte esencial del proceso de coagulación. Estas proteínas no solo contribuyen a la cascada de la coagulación, sino que también modulan varias etapas que conducen

a la formación de coágulos y la hemostasia.

Aunque la exposición a estas proteínas es esencial para la cascada de la coagulación, los dispositivos y ensayos de coagulación estándar en el punto de atención (POC) no tienen en cuenta esta interacción. Opcionalmente, el pocillo o pocillos de ensayo y/o los canales de un cartucho consumible, tal como los descritos en el presente documento, se recubren con dichas proteínas de superficie para medir la coagulación dentro de un dispositivo médico POC.

El uso de revestimientos de proteínas de superficie incluye colágeno, vWF, fibronectina y cualquier otra molécula que modula la coagulación tal como fibrinógeno y trombina. Una capa de proteína sobre un sustrato (vidrio, poliestireno, polipropileno) crea sitios de unión que permiten la mediación de las interacciones receptor-ligando entre el sustrato y otros materiales biológicos tal como la sangre de una manera que mejora la evaluación de la coagulación o proporciona nueva información del análisis.

Las superficies interiores de un cartucho consumible se pueden recubrir usando, por ejemplo: (1) una capa de tales proteínas por unión covalente usando moléculas enlazadoras, (2) unión covalente usando técnicas fotoquímicas o (3) adsorción de proteína simple. Se pueden usar moléculas enlazadoras tales como estreptavidina o avidina y biotina para este fin. Con las moléculas enlazadoras, la superficie de cualquier porción interior del cartucho que estará expuesta a la muestra biológica se biotinila (se recubre con una capa de biotina) utilizando biotina comercializada que se conjuga con un grupo reactivo que se une de manera no específica y covalente al sustrato. Se agrega una solución con una alta concentración de estreptavidina o avidina, que tienen alta afinidad por la biotina, para crear una capa de biotina unida a estreptavidina/avidina. La adición de proteína biotinilada (colágeno, vWF, fibronectina, trombina, fibrinógeno) crea a continuación una capa de proteína unida a la superficie del pocillo de ensayo que afecta específicamente a la coagulación mediante interacciones con proteínas plasmáticas y plaquetas.

La adsorción de proteínas se puede lograr llenando los pocillos con una solución de proteína altamente concentrada. La adsorción a la superficie plástica tiene lugar casi de inmediato dependiendo de la temperatura, pH, cargas superficiales, morfología de la superficie y la composición química. A continuación, se puede retirar la solución y secar al aire la superficie. Extender una solución de proteína altamente concentrada en la superficie de los pozos o sumergir los pocillos en dicha solución logrará el mismo fin.

La concentración de moléculas en las soluciones utilizadas para el recubrimiento, ya sea usando proteínas enlazadoras o adsorción, se puede cambiar para modular la cantidad de proteína que se une al sustrato y, por tanto, modular los efectos sobre la cascada de coagulación de una manera que sea relevante para la fisiología y la hemostasia.

Haciendo referencia de nuevo a la Figura 1F, para sellar cada cámara de ensayo, por ejemplo, una cámara de ensayo 116, un montaje de lente 131 incluye un sustrato rígido 132 y un acoplador 134 que puede colocarse en el extremo posterior de cada cámara de ensayo. Cada acoplador 134 comprende un material elastomérico. Opcionalmente, el material elastomérico es un elastómero termoplástico (TPE). Los ejemplos de materiales elastoméricos incluyen opcionalmente Dynaflex D3202, Versaflex OM 9-802CL, Maxelast S4740, RTP 6035. Opcionalmente, el acoplador se sobremoldea al sustrato rígido.

Entre cada acoplador 134 y el espacio abierto de cada cámara de ensayo hay un sustrato rígido 132. El sustrato rígido y el acoplador forman una interfaz que enfoca el ultrasonido transmitido (por ejemplo, el montaje de lente) por un transductor ultrasónico en el espacio abierto de la cámara y sobre cualquier fluido biológico y/o reactivos en la cámara. El sustrato rígido de la lente puede comprender un material que permita el paso del sonido y que pueda actuar para enfocar el ultrasonido en algún nivel dentro del espacio. Opcionalmente, el sustrato rígido comprende un estireno, tal como, por ejemplo Styrene® 666.

El montaje de lente se puede pegar o soldar a la superficie 101 para asegurar la lente en su lugar en una orientación que permita la focalización del sonido deseado. Como alternativa, el montaje de lente se fabrica opcionalmente junto con la superficie 101. En este sentido, el sustrato rígido 132 puede moldearse con la superficie 101 y el acoplador 134 puede sobremoldearse sobre el sustrato rígido. Se puede utilizar una amplia variedad de materiales para construir el dispositivo. Por ejemplo, los plásticos se pueden utilizar para cartuchos desechables de un solo uso.

Cada cámara de ensayo (116, 114, 112 y 110) puede tener un montaje de lente colocado sobre la gran abertura del espacio abierto de cada cámara. De esta manera, cada cámara se puede interrogar por separado mediante ultrasonido focalizado.

Cuando se coloca en el sistema de análisis 300, el acoplador 134 se puede colocar en comunicación acústica con un transductor para suministrar ultrasonido a través del montaje de lente y dentro de una cámara de ensayo. Opcionalmente, se coloca una capa intermedia de un material acústicamente permeable entre un transductor ultrasónico y el acoplador. Por ejemplo, se puede utilizar una capa intermedia o un bloque de Rexolite®. La capa intermedia se puede forzar contra el acoplador y puede estar en contacto acústico con el transductor.

El sonido generado por un transductor pasa a través de la capa intermedia, a través del acoplador, a través del sustrato rígido y se focaliza dentro de la muestra biológica y el reactivo en la cámara de ensayo. Parte del sonido dirigido a la cámara contacta con la superficie interior distal 111 de la cámara de ensayo, que está definida por la superficie 126.

5 Opcionalmente, la superficie es de poliestireno. La superficie interior distal tiene una geometría conocida y está colocada a una distancia conocida de la fuente de ultrasonidos. La superficie interior distal 111 se usa como un reflector calibrado, que se usa para estimar la velocidad del sonido y la atenuación del sonido en una cámara de ensayo en la línea de base y durante el procedimiento de formación y disolución del coágulo. Estas medidas pueden usarse, por ejemplo, para estimar el hematocrito del sujeto junto con los índices de hemostasia. El sonido generado por el transductor puede enfocarse dentro de la muestra biológica en una cámara de ensayo usando un espejo parabólico que se acopla a la muestra biológica usando un elastómero.

10 La Figura 12A ilustra un ejemplo de geometría para un espejo parabólico que se puede usar para focalizar el sonido en una o más cámaras de ensayo, en el que  $f(x,y)$  es la forma del reflector de enfoque,  $z_0$   $f(x,y)$  es la altura del reflector sobre el elemento activo en el origen, y  $(x_f, y_f, z_f)$  es la coordenada del punto focal. El reflector de focalización está definido por una curva que es equidistante del punto emisor en el elemento acústico activo y el punto focal. Esto se puede expresar como:

$$d = f(x,y) + \sqrt{(x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + (z_f - f(x,y))^2} \quad (1)$$

15 En la que  $d$  es la distancia total desde la cara de la fuente acústica hasta el foco. Si la distancia se establece desde el origen hasta el reflector como  $z_0$ , entonces la longitud total de la trayectoria es:

$$d = z_0 + \sqrt{x_f^2 - y_f^2 + (z_f - z_0)^2} \quad (2)$$

La forma del reflector se puede determinar resolviendo para  $f(x,y)$  de la siguiente manera:

$$d = f(x,y) + \sqrt{(x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + (z_f - f(x,y))^2} \quad (3)$$

$$d - f(x,y) = \sqrt{(x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + (z_f - f(x,y))^2} \quad (4)$$

$$20 (d - f(x,y))^2 = (x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + (z_f - f(x,y))^2 \quad (5)$$

$$d^2 - 2df(x,y) + f^2(x,y) = (x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + z_f^2 - 2zf(x,y) + f^2(x,y) \quad (6)$$

$$d^2 - 2df(x,y) = (x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + z_f^2 - 2zf(x,y) \quad (7)$$

$$2zf(x,y) - 2df(x,y) = (x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + z_f^2 - d^2 \quad (8)$$

$$f(x,y)(2z_f - 2d) = (x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + z_f^2 - d^2 \quad (9)$$

$$25 f(x,y) = \frac{(x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + z_f^2 - d^2}{2(z_f - d)} \quad (10)$$

Si se fija  $z_0$ , entonces la ecuación 2 anterior se puede evaluar y sustituir en la ecuación 10 anterior para obtener una ecuación para la superficie del reflector. El reflector es una sección parabólica. Los parámetros de ejemplo son opcionalmente una abertura de 8 mm con un enfoque a 16 mm lateralmente, un intervalo de 4 mm y con un desplazamiento entre el espejo y la abertura de 0,5 mm. Un diagrama de esta geometría se muestra en la Figura 12B. 30 Esta geometría es útil cuando el espejo de focalización está situado dentro del sistema. El espejo también se puede colocar dentro del cartucho. En este caso, el foco se mueve opcionalmente más cerca en la dimensión axial, pero más en la dimensión lateral como se muestra en la Figura 12C.

35 El cartucho 100 se puede colocar en el bolsillo 302 de un sistema de análisis 300. Como se muestra en la Figura 4, el bolsillo incluye un sistema accionador 402 para presionar la capa intermedia, tal como Rexolite®, que está acoplado acústicamente a un transductor en contacto con el acoplador 134. De esta manera, el bolsillo sujeta el cartucho de forma segura en su lugar y en una orientación tal que el ultrasonido puede focalizarse en cada cámara de ensayo.

40 La Figura 5 muestra aspectos adicionales del cartucho 100 colocado en el sistema de análisis. El cartucho se coloca de manera que la capa intermedia 504 se empuja hacia el acoplador 134, que está en comunicación con el sustrato rígido 132 del montaje de lente 131. Los medios 502 de generación de ultrasonidos, que incluyen al menos un transductor ultrasónico, se colocan de manera que se transmiten los ultrasonidos a través de la capa intermedia, el montaje de lente y dentro de la cámara de ensayo.

45 Al menos una parte del sonido es reflejada por la muestra biológica situada en el interior de la cámara, y una parte del sonido transmitido a la cámara también puede reflejarse desde la superficie distal 111 de la cámara. El ultrasonido reflejado puede ser recibido por el transductor ultrasónico y transmitido al sistema para su procesamiento. Por tanto, el cartucho y el sistema de análisis 300 pueden estar en comunicación de modo que los datos y otras señales operativas o de procesamiento puedan comunicarse entre el cartucho y el sistema de análisis.

Por tanto, un sistema de análisis adecuado 300 puede comprender uno o más dispositivos de procesamiento. El procesamiento de los procedimientos, dispositivos y sistemas desvelados se puede realizar mediante componentes de software. Por tanto, los sistemas, dispositivos y procedimientos desvelados, incluyendo el sistema de análisis 300, pueden describirse en el contexto general de instrucciones ejecutables por ordenador, tales como módulos de programa, que se ejecutan por uno o más ordenadores u otros dispositivos. En general, los módulos de programa comprenden código del ordenador, rutinas, programas, objetos, componentes, estructuras de datos, etc. que realizan tareas particulares o implementan tipos de datos abstractos particulares. Por ejemplo, los módulos de programa se pueden usar para provocar la transmisión de ultrasonidos que tienen los parámetros de transmisión deseados y para recibir y procesar ultrasonidos para evaluar los índices de hemostasia de una muestra del sujeto. El software también se puede usar para controlar el calentamiento de la muestra biológica usando el intercambiador de calor y para monitorizar e indicar el nivel de llenado de una cámara determinada. El procesador también se puede utilizar para realizar algoritmos, para determinar índices hemostáticos y el hematocrito. En algunos ejemplos, el software se puede utilizar para recuperar el hematocrito determinado a partir de índices hemostáticos determinados. Los índices hemostáticos determinados y el hematocrito pueden mostrarse a un profesional médico o un agente médico con el fin de tomar decisiones médicas para un sujeto.

Por tanto, un experto en la materia apreciará que los sistemas, dispositivos y procedimientos desvelados en el presente documento se pueden implementar mediante un dispositivo informático de uso general en forma de ordenador. El ordenador, o partes del mismo, pueden estar ubicados en el sistema de análisis 300. Los componentes del ordenador pueden comprender, pero sin limitación, uno o más procesadores o unidades de procesamiento, una memoria del sistema y un bus del sistema que acopla varios componentes del sistema, incluido el procesador, a la memoria del sistema. En el caso de múltiples unidades de procesamiento, el sistema puede utilizar computación en paralelo.

El ordenador comprende normalmente una variedad de medios legibles por ordenador. Los medios legibles de ejemplo pueden ser cualquier medio disponible que sea accesible por el ordenador y comprenda, por ejemplo, y sin pretender ser limitativo, medios tanto volátiles como no volátiles, medios extraíbles y no extraíbles. La memoria del sistema comprende medios legibles por ordenador en forma de memoria volátil, tal como memoria de acceso aleatorio (RAM), y/o memoria no volátil, tal como una memoria de solo lectura (ROM). La memoria del sistema contiene normalmente datos tales como datos y/o módulos de programa tales como sistema operativo y software que son inmediatamente accesibles y/o son operados actualmente por la unidad de procesamiento.

En otro aspecto, el ordenador también puede comprender otros medios de almacenamiento informáticos extraíbles/no extraíbles, volátiles/no volátiles. A modo de ejemplo, un dispositivo de almacenamiento masivo, que puede proporcionar almacenamiento no volátil de código de ordenador, instrucciones legibles por ordenador, estructuras de datos, módulos de programa y otros datos para el ordenador. Por ejemplo, y sin pretender ser limitativo, un dispositivo de almacenamiento masivo puede ser un disco duro, un disco magnético extraíble, un disco óptico extraíble, casetes magnéticos u otros dispositivos de almacenamiento magnético, tarjetas de memoria flash, CD-ROM, discos versátiles digitales (DVD) u otro almacenamiento óptico, memorias de acceso aleatorio (RAM), memorias de solo lectura (ROM), memoria de solo lectura programable y borrible eléctricamente (EEPROM), y similares.

Opcionalmente, se puede almacenar cualquier número de módulos de programa en el dispositivo de almacenamiento masivo, incluyendo a modo de ejemplo, un sistema operativo y software. Cada sistema operativo y software, o alguna combinación de los mismos, puede comprender elementos de la programación y el software. Los datos también se pueden almacenar en el dispositivo de almacenamiento masivo. Los datos se pueden almacenar en una cualquiera de una o más bases de datos conocidas en la técnica. Ejemplos de tales bases de datos comprenden DB2®, Microsoft® Access, Microsoft® SQL Server, Oracle®, mySQL, PostgreSQL, y similares. Las bases de datos se pueden centralizar o distribuir en varios sistemas.

En otro aspecto, el usuario puede introducir comandos e información en el ordenador a través de un dispositivo de entrada. Los ejemplos de dichos dispositivos de entrada comprenden, pero sin limitación, un teclado, un dispositivo señalador (por ejemplo, un "ratón"), una pantalla táctil, un escáner y similares. Estos y otros dispositivos de entrada se pueden conectar a la unidad de procesamiento a través de una interfaz hombre-máquina que está acoplada al bus del sistema, pero se pueden conectar mediante otras estructuras de interfaz y bus, tal como un puerto paralelo, puerto de juegos, un puerto IEEE 1394 (también conocido como puerto Firewire), un puerto en serie, o un bus universal en serie (USB).

En aún otro aspecto, un dispositivo de visualización 304, tal como una pantalla táctil, también se puede conectar al bus del sistema a través de una interfaz, tal como un adaptador de pantalla. Se contempla que el ordenador pueda tener más de un adaptador de pantalla y que el ordenador pueda tener más de un dispositivo de visualización. Por ejemplo, un dispositivo de visualización puede ser un monitor, una pantalla LCD (pantalla de cristal líquido) o un proyector.

Cualquier de los procedimientos desvelados puede realizarse mediante instrucciones legibles por ordenador incorporadas en medios legibles por ordenador. Los medios legibles por ordenador pueden ser cualquier medio disponible al que se pueda acceder desde un ordenador. A modo de ejemplo y no de limitación, los medios legibles por ordenador pueden comprender medios de almacenamiento informáticos y medios de comunicación. Los medios de almacenamiento informáticos comprenden medios volátiles y no volátiles, extraíbles y no extraíbles implementados

en cualquier procedimiento o tecnología para el almacenamiento de información, tales como instrucciones legibles por ordenador, estructuras de datos, módulos de programa u otros datos.

**Ejemplo 1**

Los reactivos en cada cámara de ensayo, también denominada pocillo de ensayo, pueden incluir todos los reactivos necesarios para evaluar uno o más índices de hemostasia.

Opcionalmente, el cartucho es un cartucho desechable de un solo uso con reactivos liofilizados precargados. El cartucho se puede utilizar con sangre completa de un sujeto. El cartucho o los componentes del ensayo incluyen lo siguiente para muestras de sangre completa fresca. Cuatro pocillos separados que contienen reactivos liofilizados a los que se añaden 1,6 ml de sangre completa fresca. Cada pocillo de ensayo utiliza alrededor de 300  $\mu$ l de sangre completa fresca junto con los siguientes reactivos:

Tabla 1:

Pocillo de ensayo 1	Pocillo de ensayo 2	Pocillo de ensayo 3	Pocillo de ensayo 4
0,15 mg de caolín	0,15 mg de caolín	0,3 U de trombina	factor tisular recombinante
tampones y estabilizantes	tampones y estabilizantes	tampones y estabilizantes	tampones y estabilizantes
0 $\mu$ l de abciximab 2 mg/ml	12 $\mu$ l de abciximab 2 mg/ml	12 $\mu$ l de abciximab 2 mg/ml	0 $\mu$ l de abciximab 2 mg/ml

Los sistemas y procedimientos de los dispositivos utilizan el fenómeno de la fuerza de la radiación acústica para medir los cambios en las propiedades mecánicas (por ejemplo, rigidez) de una muestra de sangre durante los procesos de coagulación y fibrinólisis. Estos cambios son representativos del papel de los cuatro componentes clave de la hemostasia: (i) factores de coagulación plasmáticos, (ii) plaquetas, (iii) fibrinógeno y (iv) factores fibrinolíticos del plasma. El enfoque básico se muestra en las Figuras 6A-C.

Se envía una serie de N pulsos de ultrasonido focalizados a una muestra de sangre a intervalos cortos  $\Delta T$  ( $\Delta T$  es del orden de microsegundos), como se muestra esquemáticamente en el panel A. Cada pulso genera una fuerza pequeña y localizada dentro de la sangre a medida que se absorbe la energía acústica y se refleja durante la propagación. Esta fuerza, que se concentra alrededor del foco del haz de ultrasonidos, induce un pequeño desplazamiento dentro de la muestra de sangre que depende de las propiedades mecánicas locales. Estos desplazamientos son del orden de 40 micrómetros o menos en el foco del haz de ultrasonidos.

Cada pulso también devuelve un eco, ya que una parte de su energía se refleja desde el interior de la muestra de sangre. Debido a que la muestra se mueve ligeramente de una transmisión de pulsos a la siguiente, la longitud de la trayectoria entre el emisor de ultrasonido fijo y cualquier región dada dentro del objetivo aumenta con el número de pulsos. Este cambio en la longitud del trayecto se puede estimar a partir de las diferencias en los tiempos de llegada de los ecos de la misma región. El conjunto de estos retrasos forma una curva de desplazamiento temporal que contiene información combinada sobre las propiedades viscoelásticas de la muestra. Estas curvas de desplazamiento temporal se muestran en la Figura 6B. Estas curvas de desplazamiento temporal se miden cada 6 segundos para caracterizar completamente la dinámica de la coagulación y la fibrinólisis, lo que representa todo el proceso hemostático.

Cuando la muestra de sangre está en un estado de fluido viscoso, la aplicación de la fuerza acústica genera grandes desplazamientos. A medida que se activa la coagulación y el fibrinógeno se reticula en hebras de fibrina, la muestra se comporta como un sólido viscoelástico y el desplazamiento inducido se reduce a medida que aumenta la rigidez de la muestra. La interacción de las plaquetas y la malla de fibrina también reduce aún más los desplazamientos inducidos a medida que aumenta la rigidez del coágulo. A medida que el coágulo avanza hacia la fase de fibrinólisis, las enzimas fibrinolíticas disuelven la malla de fibrina y la muestra vuelve a ser un fluido viscoso, presentando desplazamientos crecientes.

Por tanto, la evolución de la magnitud de los desplazamientos inducidos a lo largo del tiempo está directamente relacionada con los cambios en las propiedades mecánicas de la muestra de sangre durante la hemostasia. Una curva obtenida con este procedimiento se muestra en la Figura 6. Los datos funcionales, que resaltan el papel de los factores de coagulación, las plaquetas, el fibrinógeno y la fibrinólisis se pueden extraer de la curva, como se indica en la Figura 6.

La fuerza de radiación acústica resulta de la transferencia de impulso que ocurre cuando una onda acústica que se propaga es absorbida o reflejada. Esta fuerza corporal actúa en la dirección de la onda que se propaga y puede aproximarse mediante la siguiente expresión:

$$F = \frac{2\alpha(I(t))}{c} = \frac{2\alpha PII}{c} \frac{1}{\Delta T}$$

en la que  $\alpha$  [m-1] es el coeficiente de atenuación acústica,  $c$  [m/s] es la velocidad del sonido,  $I(t)$  [W/m<sup>2</sup>] es la intensidad

instantánea del haz de ultrasonidos, PII es la integral de la intensidad del pulso,  $\Delta T$  [s] es el intervalo de tiempo entre sucesivas transmisiones de pulsos ultrasónicos y  $\langle \rangle$  indica una cantidad promediada en el tiempo.

La energía acústica utilizada por el instrumento para generar la fuerza de radiación acústica es comparable con la energía acústica que se utiliza normalmente para los procedimientos médicos de ultrasonido habituales, como la

5 formación de imágenes Doppler en color. La intensidad acústica máxima estimada es del orden de  $2,5 \text{ W/cm}^2$  (promedio en el tiempo), lo que da como resultado un aumento de temperatura de la muestra de sangre de  $0,01^\circ\text{C}$  para cada conjunto de medición (realizado aproximadamente cada 6 segundos).

A medida que la muestra de sangre cambia rápidamente de fluido viscoso a sólido viscoelástico durante la coagulación y de nuevo a fluido viscoso después de la lisis del coágulo, la fuerza de radiación acústica aplicada cambia de forma adaptativa para inducir desplazamientos por encima del umbral de ruido, pero por debajo de los niveles que podrían inducir interrupciones mecánicas (normalmente por debajo de 40 micrómetros).

10 La magnitud de la fuerza se ajusta para seguir los cambios en las propiedades mecánicas de la muestra de sangre variando el intervalo de tiempo  $\Delta T$  entre pulsos sucesivos, como se muestra en la ecuación 1. El desplazamiento máximo inducido durante la adquisición ( $m-1$ ) se usa para determinar si la fuerza debe aumentarse o disminuirse para la 15 mésima adquisición, basándose en valores de umbral predeterminados. Este procedimiento adaptativo permite la caracterización de rigidez de cinco órdenes de magnitud sin generar una gran tensión dentro de la muestra de sangre que podría alterar la dinámica de la coagulación y la fibrinólisis.

15 Como se muestra en la ecuación (1), la fuerza de radiación acústica aplicada cambia en función de la atenuación acústica y la velocidad del sonido, y ambas cambian en función de la coagulación. El sistema usa los ecos que regresan desde el interior del cartucho para estimar cambios en estos parámetros y normalizar la fuerza de radiación acústica.

20 La fuerza de radiación acústica se genera utilizando materiales piezoeléctricos convencionales que actúan como emisores y receptores acústicos. Estos materiales se deforman cuando se aplica un voltaje a través de ellos y, a la inversa, generan un voltaje cuando se deforman. De manera similar a la óptica, se puede colocar una lente acústica frente al material piezoeléctrico para focalizar la energía acústica en un solo punto focal.

25 En los sistemas, procedimiento y dispositivos de ejemplo se utilizan discos piezoeléctricos que tienen un diámetro activo de 7,5 mm. La lente acústica es proporcionada por la forma curva del cartucho desechable. Se colocan cuatro discos uno al lado del otro para enviar el sonido a los cuatro pocillos de ensayo en un cartucho desechable. La frecuencia de vibración de estos discos piezoeléctricos se centra en 10 MHz, perfectamente dentro del intervalo de frecuencias utilizadas en la adquisición de imágenes por ultrasonidos convencional.

30 Las señales de eco de ultrasonido que regresan a los transductores desde las muestras de sangre se filtran primero para eliminar el ruido electrónico, se digitalizan y se procesan posteriormente dentro de un procesador integrado en el sistema. En la Figura 7 se muestra un diagrama de flujo de las etapas de análisis de datos realizadas por el sistema, en el que un ensayo comienza en el bloque 700. Los pulsos de ultrasonido se transmiten a una muestra objetivo en un pocillo de ensayo en 702. Los ecos se reciben, filtran y digitalizan en 704. Despues de una breve espera 706, se

35 pueden repetir las etapas 702 a 704. Se aplica una estimación de retraso temporal en 708 y un ajuste de curva en 710. A continuación, el sistema determina si se han adquirido suficientes datos para estimar los índices de hemostasia deseados en 712. Si hay suficientes datos para estimar un índice de hemostasia, se estima el índice de hemostasia en 714 y se visualiza en 716. Si en 712 se determina que no se han adquirido suficientes datos para estimar un índice de hemostasia, el sistema determina si el ensayo debe detenerse en 718 y, si es así, se genera un resumen de salida en 722. Si el ensayo va a continuar, después de una larga espera 770, se repiten opcionalmente una o más etapas

40 702-770.

#### Estimación del retraso temporal

45 Una vez que se envía un conjunto de  $N$  pulsos a la muestra de sangre y se obtienen los ecos de retorno, se realiza una estimación del retraso temporal (TDE) para estimar una curva de desplazamiento temporal local, de manera similar a la mostrada en la Figura 6B. La TDE implica medir el cambio de tiempo relativo de un eco recibido al siguiente; el valor conocido de la velocidad del sonido en sangre permite convertir los cambios de tiempo en desplazamientos. La TDE se realiza alrededor del foco del haz de ultrasonido. Este procedimiento se repite cada 6 segundos (espera fija arbitraria) para obtener curvas de desplazamiento temporal a lo largo del proceso de coagulación y fibrinólisis.

50 Hay una variedad de algoritmos disponibles para realizar esta operación. La TDE es una etapa común de procesamiento de señales en campos de aplicación que van desde el RADAR, SONAR e imágenes ecográficas médicas (Doppler).

#### Ajuste de la curva

55 Las propiedades viscoelásticas de la muestra de sangre durante la hemostasia se modelan utilizando un modelo modificado que consiste en el conocido modelo mecánico de Voigt-Kelvin con la adición de inercia. Si bien los cambios dinámicos en la viscoelasticidad de la sangre durante la hemostasia son ciertamente complejos, el modelo de Voigt-Kelvin modificado es simple y robusto, y se ha validado perfectamente en el pasado.

Cada curva de tiempo de desplazamiento temporal se ajusta a la ecuación característica del modelo de Voigt-Kelvin modificado para estimar una variedad de parámetros relacionados con las propiedades viscoelásticas de la muestra. Estos parámetros incluyen elasticidad relativa, viscosidad relativa, constante de tiempo y desplazamiento máximo. La expresión matemática de la ecuación de movimiento para el modelo de Voigt-Kelvin modificada es

$$x(t) = -\frac{\xi + \sqrt{\xi^2 - 1}}{2\sqrt{\xi^2 - 1}} s \cdot e^{(-\xi + \sqrt{\xi^2 - 1})\omega t} + \frac{\xi - \sqrt{\xi^2 - 1}}{2\sqrt{\xi^2 - 1}} s \cdot e^{(-\xi - \sqrt{\xi^2 - 1})\omega t} + s \quad (2)$$

5

en la que  $\xi$  es la relación de amortiguamiento,  $\omega$  es la frecuencia natural, y  $s$  es la sensibilidad estática.

Entre los parámetros obtenidos por el ajuste de la curva, el sistema utiliza la magnitud de desplazamiento estimada en 1 segundo como medida cualitativa de la rigidez de la muestra. Cuando la sangre está en un estado de fluido viscoso, el desplazamiento a 1 segundo es alto. A medida que la sangre se coagula, este desplazamiento disminuye proporcionalmente a la generación de la malla de fibrina y la actividad de las plaquetas. El valor aumenta nuevamente durante el proceso de fibrinolisis.

10

#### Estimación de los índices de la función hemostática

Los valores de desplazamiento obtenidos en 1 segundo para cada adquisición de datos se compilan para formar una curva que muestra la rigidez relativa en función del tiempo (Figura 6C). Esta curva, mostrada anteriormente, caracteriza completamente la hemostasia y puede procesarse más para estimar índices directos de función hemostática.

15

Los índices de hemostasia se calculan ajustando una curva sigmoidea a la curva rigidez-tiempo (Figura 6C) y evaluando la primera derivada de la curva. Los tiempos de coagulación de TC1 y TC2 se calculan basándose en un valor umbral de la curva derivada (20 % del valor mínimo) y son indicativos de la fase inicial y final de la polimerización de fibrina. La pendiente de coagulación CFR es el máximo de la curva derivada y es indicativa de la velocidad de polimerización de la fibrina. La rigidez S se estima a partir de la curva de rigidez 3 minutos después de TC2. S depende de la función plaquetaria y la rigidez final de la red de fibrina. Se calculan procedimientos e índices idénticos para el proceso fibrinolítico. En particular, los tiempos TL1 y TL2 pueden definirse para representar las fases inicial y final del proceso fibrinolítico y la consiguiente disolución de la malla de fibrina (tiempo hasta la lisis).

En la tabla 2 se presenta un resumen de los parámetros generados para cada cámara de ensayo:

Parámetro	Información proporcionada	Dependiente de
TC <sub>1</sub> , TC <sub>2</sub>	Medida de la formación inicial y final de la fibrina	Función del fibrinógeno y de otros factores de la coagulación
S	Actividad de la fibrina y de las plaquetas	Función de la malla de fibrina y de la agregación plaquetaria
CFR	Tasa de polimerización de la fibrina	Función del fibrinógeno y de otros factores de la coagulación
TL <sub>1</sub> , TL <sub>2</sub>	Proceso de disolución de coágulos	Función de las proteínas fibrinolíticas del plasma

20

Para aislar los cuatro componentes principales de la hemostasia, se realizan cuatro mediciones en paralelo dentro del cartucho desechable utilizando una combinación de agonistas y antagonistas en cada uno de los cuatro pocillos. Las mediciones en cada pocillo se combinan para formar índices de hemostasia como se muestra en la tabla 3:

Resultado	Procedimiento
Índice de los factores de la coagulación (vía intrínseca)	Tiempo de coagulación TC <sub>1</sub> en el pocillo n.º 1
Índice de los factores de la coagulación (vía extrínseca)	Tiempo de coagulación TC <sub>1</sub> en el pocillo n.º 4
Índice plaquetario	Rigidez S diferencial entre el pocillo n.º 1 y el pocillo n.º 2
Índice de fibrinógeno	Rigidez S en el pocillo n.º 3
Resultado	Procedimiento
Índice de fibrinolisis	Tiempo de lisis TL <sub>1</sub> en el pocillo n.º 4

## REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo (100) de evaluación de la hemostasia, que comprende:

una primera, segunda, tercera y cuarta cámaras de ensayo (110, 112, 114, 116) configuradas cada una para recibir una muestra de sangre de ensayo, comprendiendo cada cámara de ensayo un reactivo respectivo o una combinación de reactivos que interactúan con la muestra de sangre de ensayo recibida en su interior; y en el que cada cámara de ensayo comprende además un aparato de focalización del sonido respectivo posicionado para focalizar el sonido en la cámara de ensayo, en el que cada aparato de focalización del sonido es un montaje de lente (131) sellado sobre cada una de las cámaras de ensayo, de tal manera que cada una de la primera, segunda, tercera y cuarta cámaras de ensayo está configurada para ser interrogada para determinar un parámetro de hemostasia de las muestras de ensayo, y en el que la interrogación comprende la medición de al menos una propiedad viscoelástica de la respectiva muestra de ensayo.

2. El dispositivo de la reivindicación 1, que comprende además una trayectoria de fluido que tiene una entrada para recibir la muestra de ensayo, en el que la trayectoria de fluido (202) está en comunicación con la primera, segunda, tercera y cuarta cámaras de ensayo para suministrar la muestra de ensayo, o una parte de la misma, a la primera, segunda, tercera y cuarta cámaras de ensayo.

3. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que cada montaje de lente comprende un sustrato rígido (132) y un acoplador (134) colocado en un extremo de la respectiva cámara de ensayo, en el que cada acoplador comprende un material elastomérico.

4. Un sistema que comprende el dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, y que comprende además un transductor para transmitir ultrasonido a la primera, segunda, tercera y cuarta cámaras de ensayo y para recibir el sonido reflejado desde la cámara respectiva y las muestras de ensayo de su interior, y al menos un procesador configurado para determinar un parámetro de hemostasia del sonido recibido.

5. El sistema de la reivindicación 4, cuando dependa de la reivindicación 3, en el que el sustrato rígido y el acoplador forman una interfaz que focaliza el ultrasonido transmitido por el transductor hacia la cámara.

6. El sistema de la reivindicación 4, en el que el parámetro de hemostasia se selecciona del grupo que consiste en TC1, TC2, rigidez del coágulo, tasa de formación de coágulos (CFR), TL1, y TL2.

7. El sistema de la reivindicación 4, en el que el procesador está configurado además para determinar un índice de factores de coagulación.

8. El sistema de la reivindicación 7, en el que el índice de factores de coagulación es un índice de factores de coagulación de la vía intrínseca.

9. El sistema de la reivindicación 7, en el que el índice de factores de coagulación es un índice de factores de coagulación de la vía extrínseca.

10. El sistema de la reivindicación 4, en el que el procesador está configurado además para determinar un índice de factores de coagulación de la vía intrínseca, un índice de factores de coagulación de la vía extrínseca, un índice de plaquetas, un índice de fibrinógeno y un índice de fibrinólisis.

11. Un procedimiento de evaluación de la hemostasia utilizando el sistema de la reivindicación 4, comprendiendo el procedimiento:

recibir una muestra de sangre de ensayo dentro de cada una de la primera, segunda, tercera y cuarta cámaras de ensayo (110, 112, 114, 116);

40 trasmítir, usando el transductor, ultrasonido a la primera, segunda, tercera y cuarta cámaras de ensayo y recibir el sonido reflejado de las cámaras y las muestras de ensayo en su interior; y determinar, usando el procesador, un parámetro de hemostasia del sonido recibido,

en el que:

45 cada una de la primera, segunda, tercera y cuarta cámaras de ensayo están configuradas para ser interrogadas para determinar un parámetro de hemostasia de las muestras de ensayo;

la interrogación comprende la medición de al menos una propiedad viscoelástica de la respectiva muestra de ensayo; y el sonido se transmite a cada cámara de ensayo a través del respectivo montaje de lente (131).

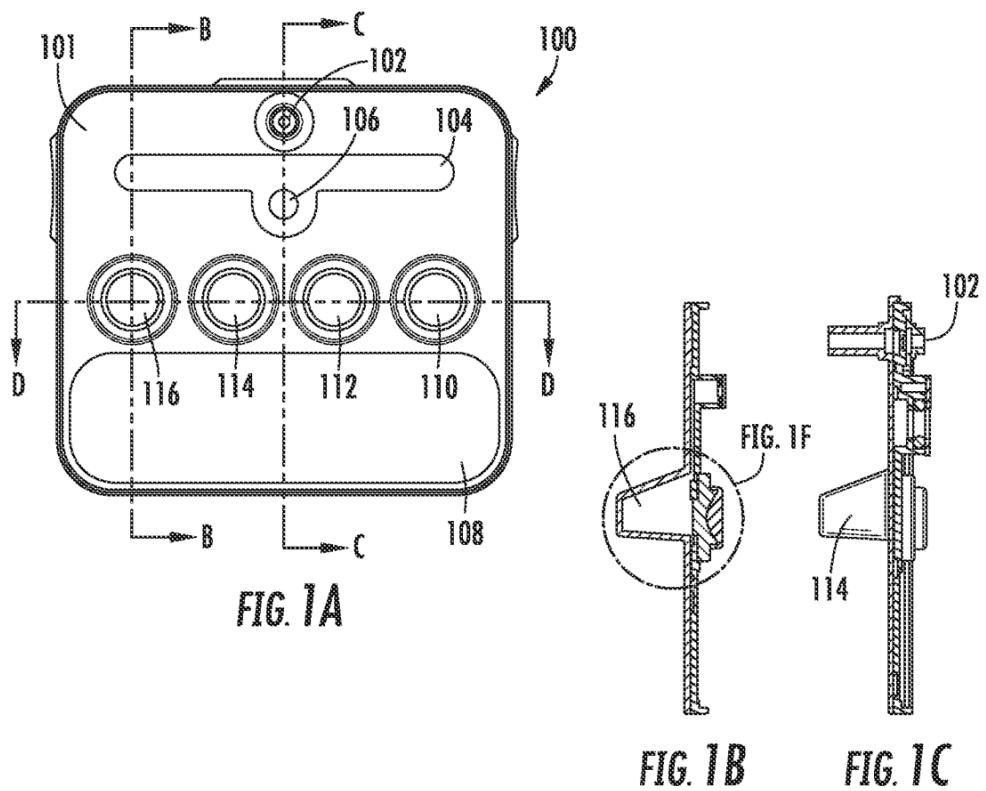


FIG. 1A

FIG. 1B

FIG. 1C

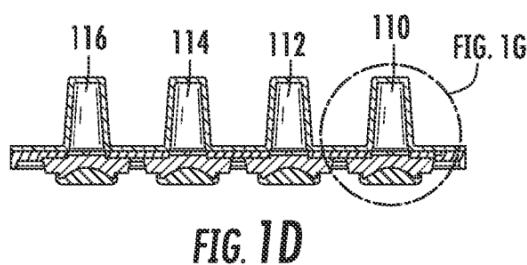


FIG. 1D

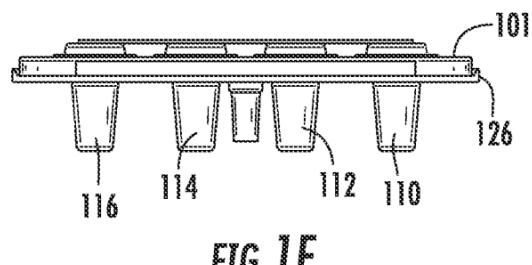
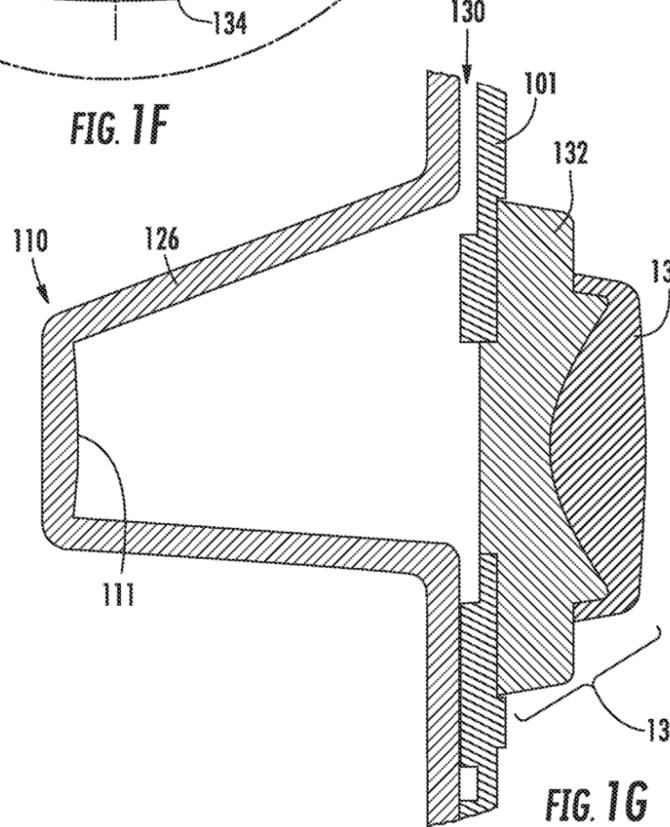
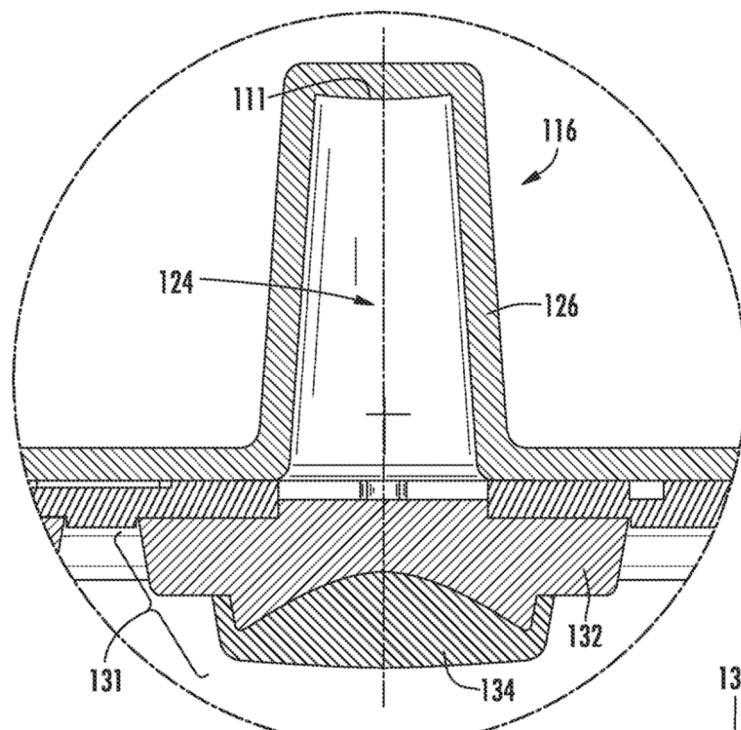


FIG. 1E



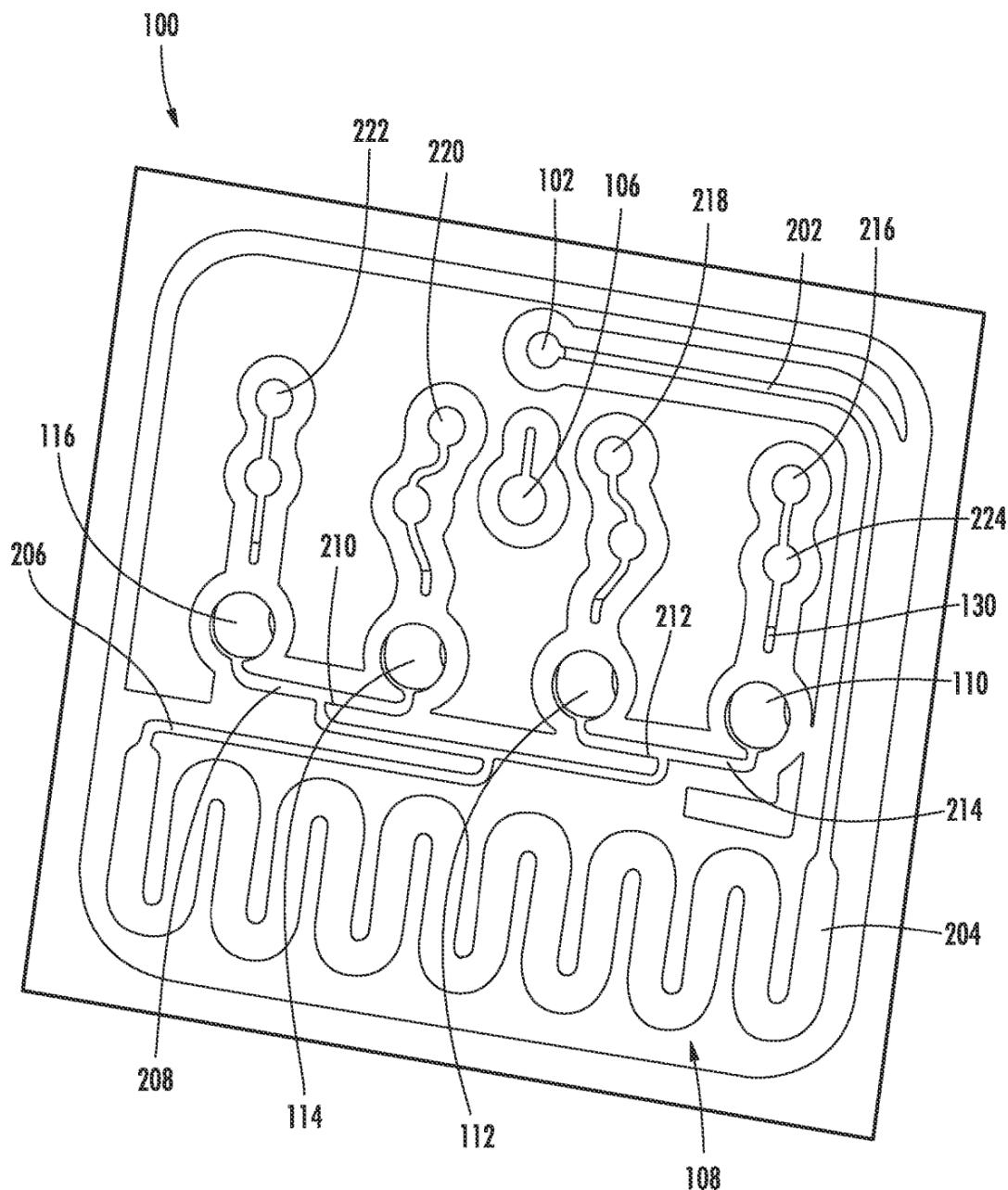


FIG. 2

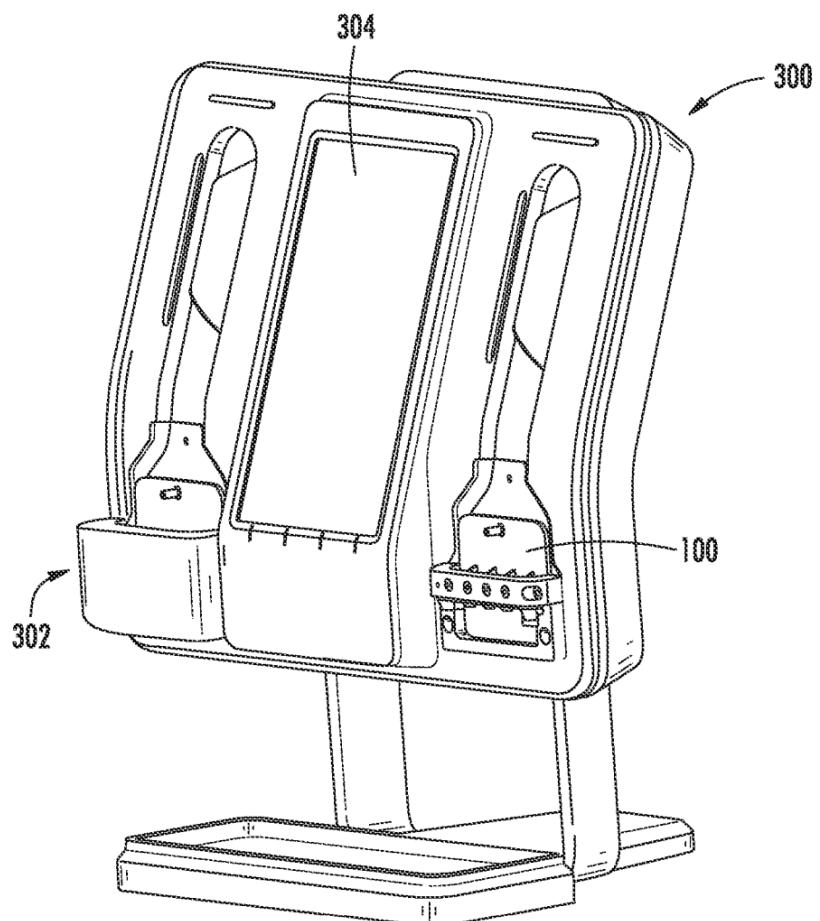


FIG. 3

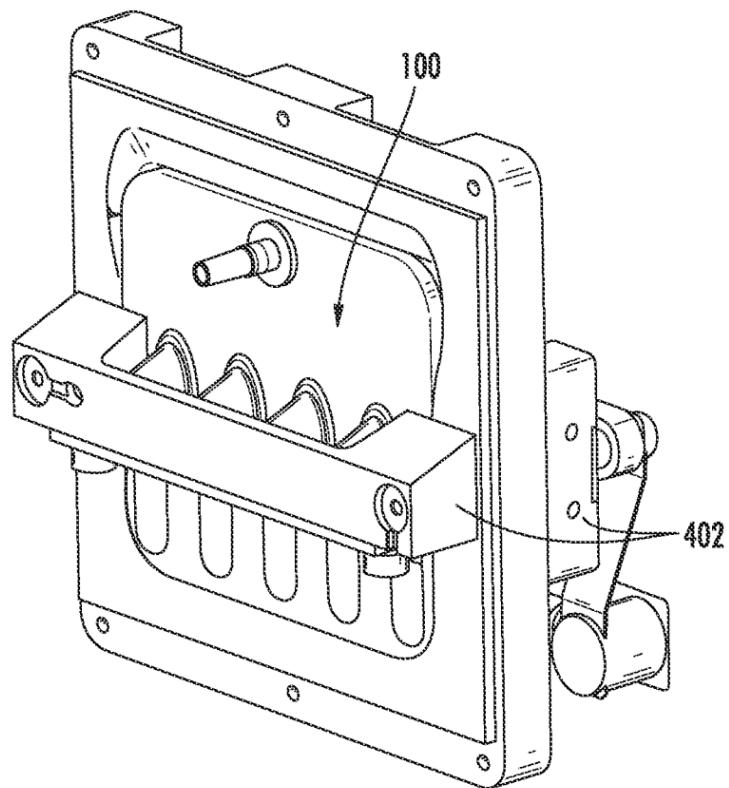


FIG. 4

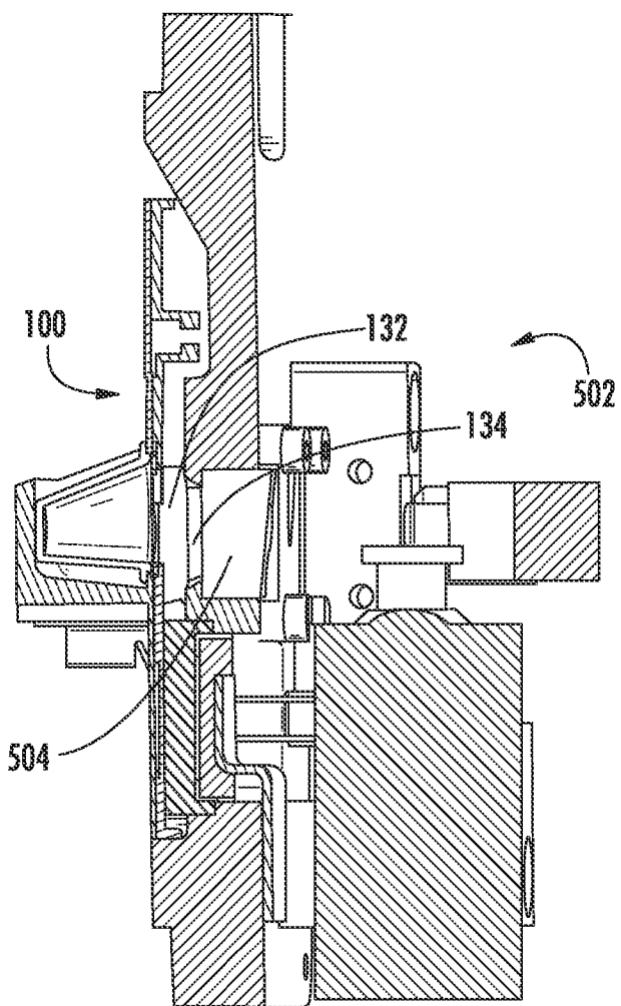


FIG. 5

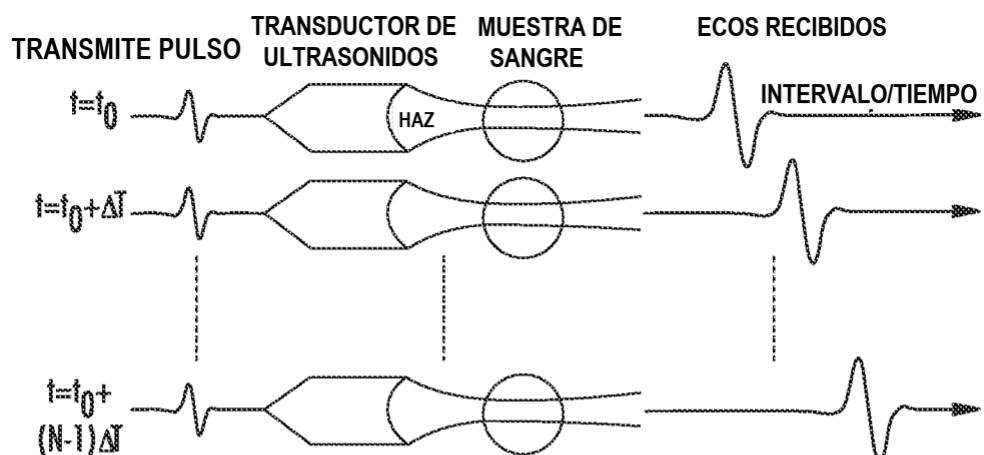


FIG. 6A

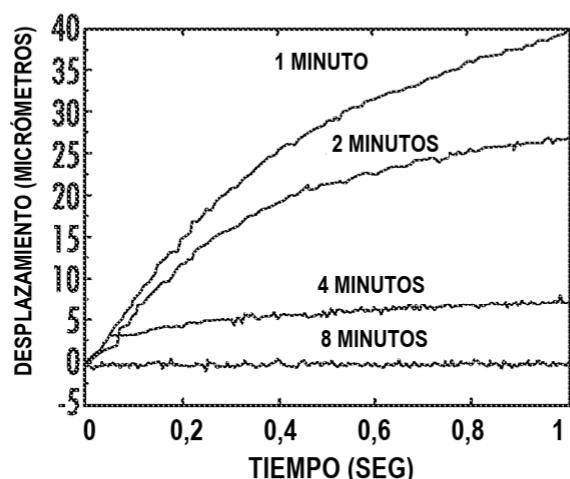


FIG. 6B

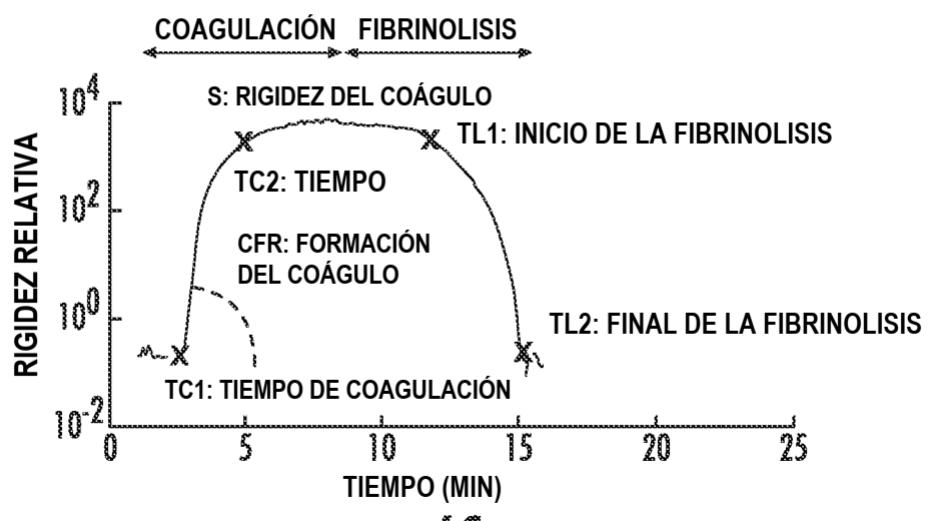


FIG. 6C

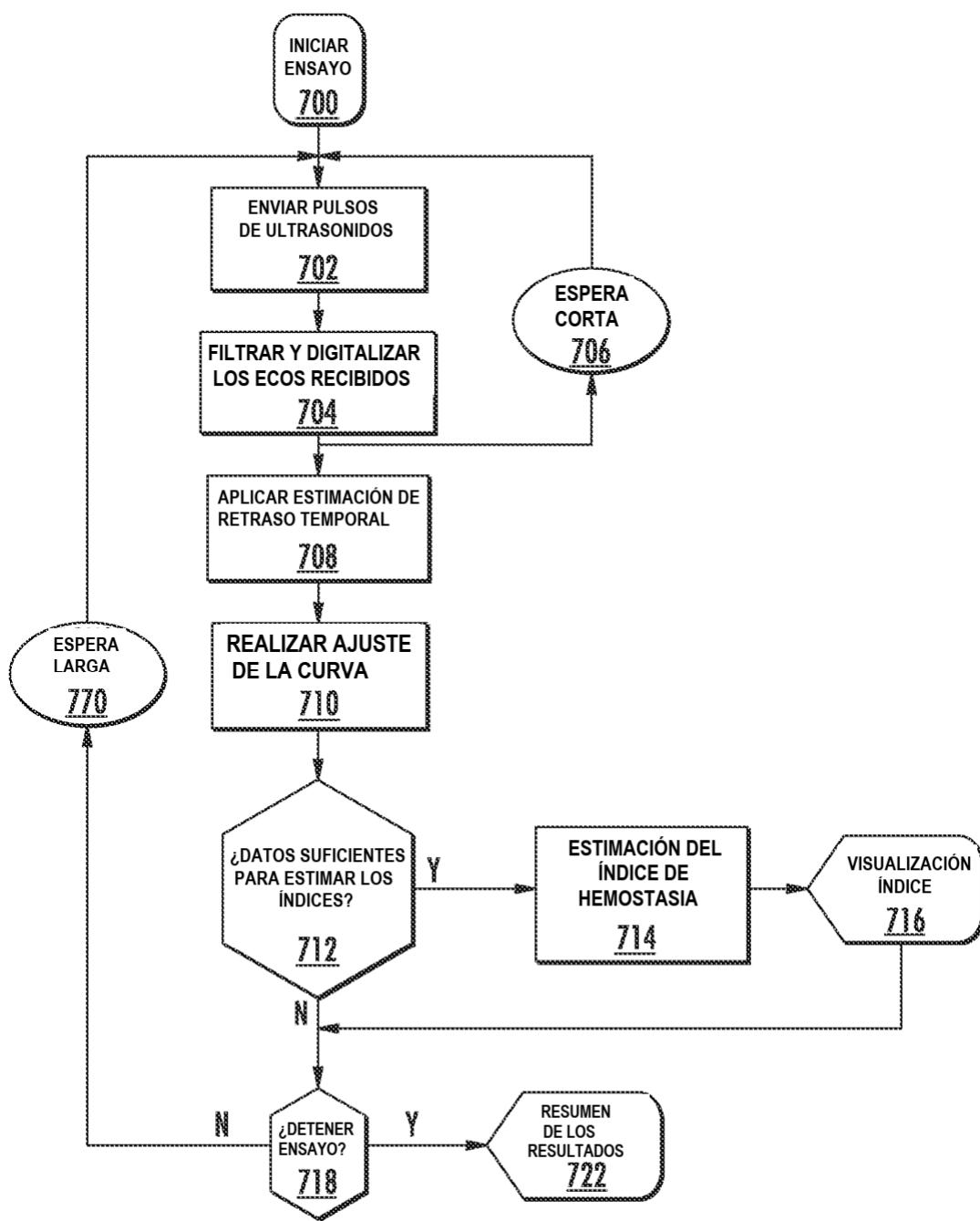


FIG. 7

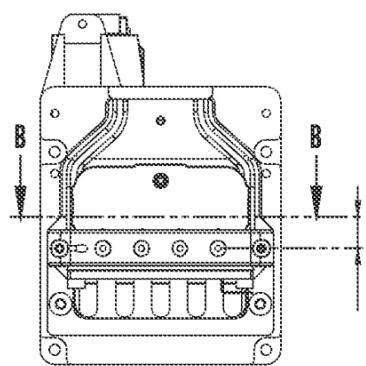


FIG. 8A

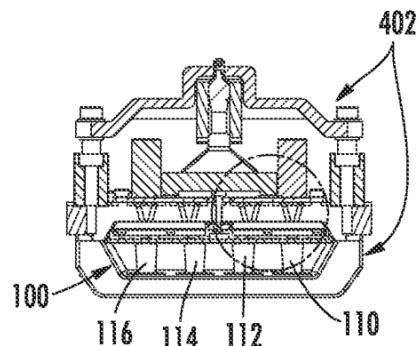


FIG. 8B

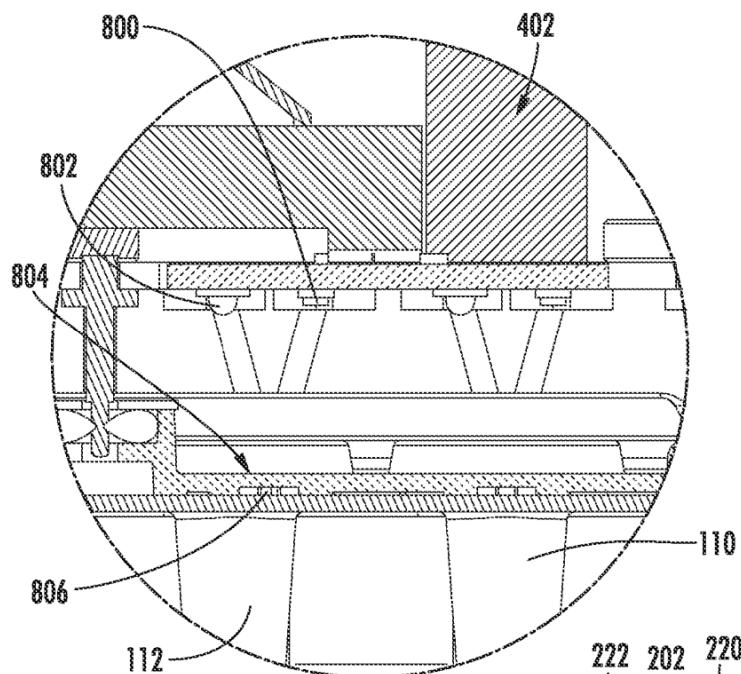


FIG. 8C

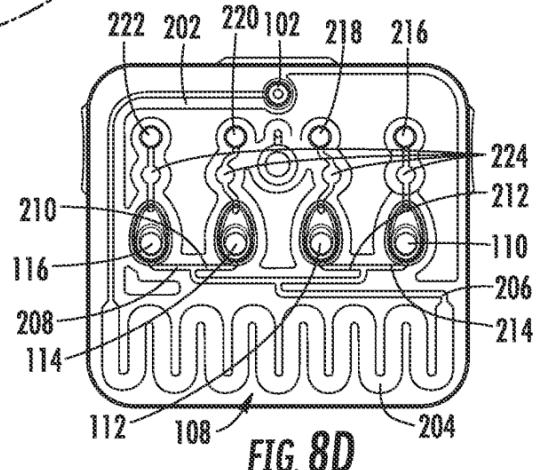


FIG. 8D

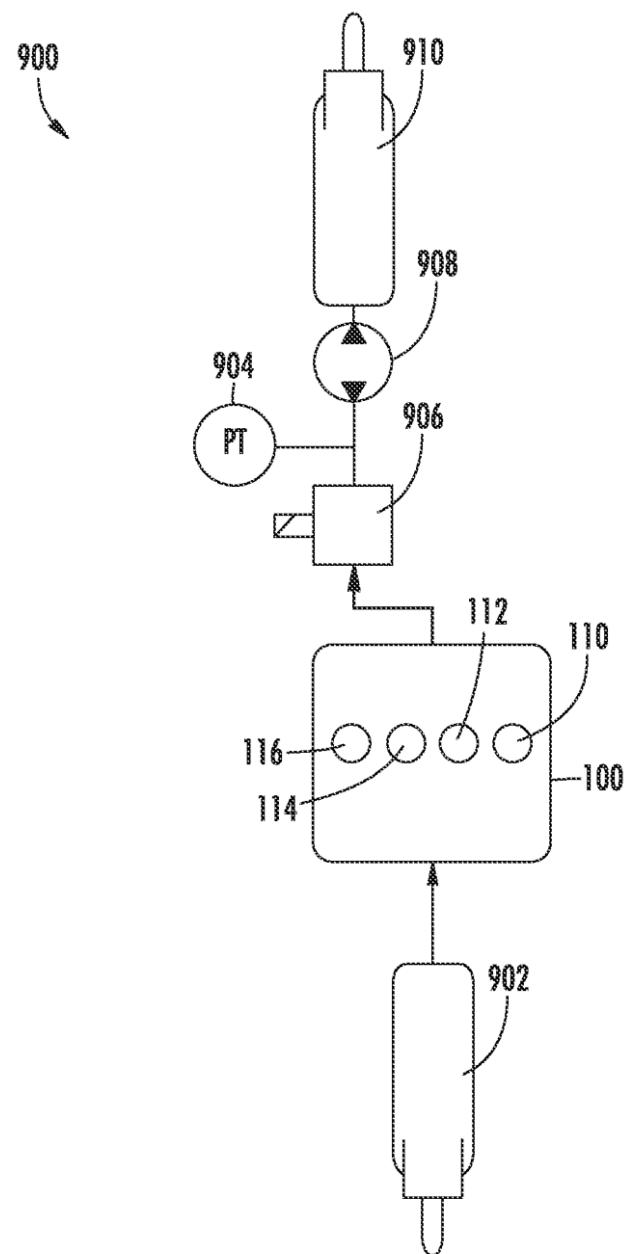


FIG. 9A

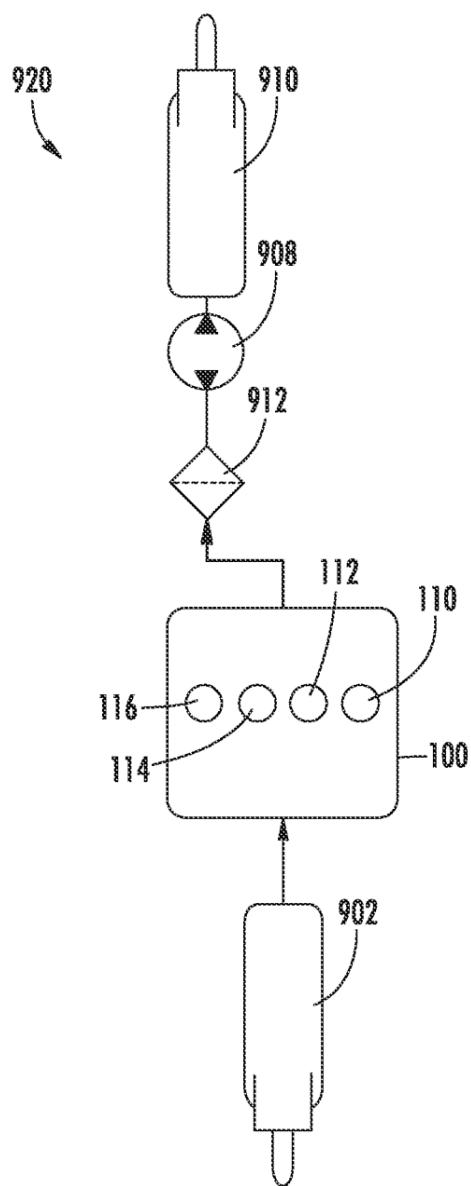


FIG. 9B

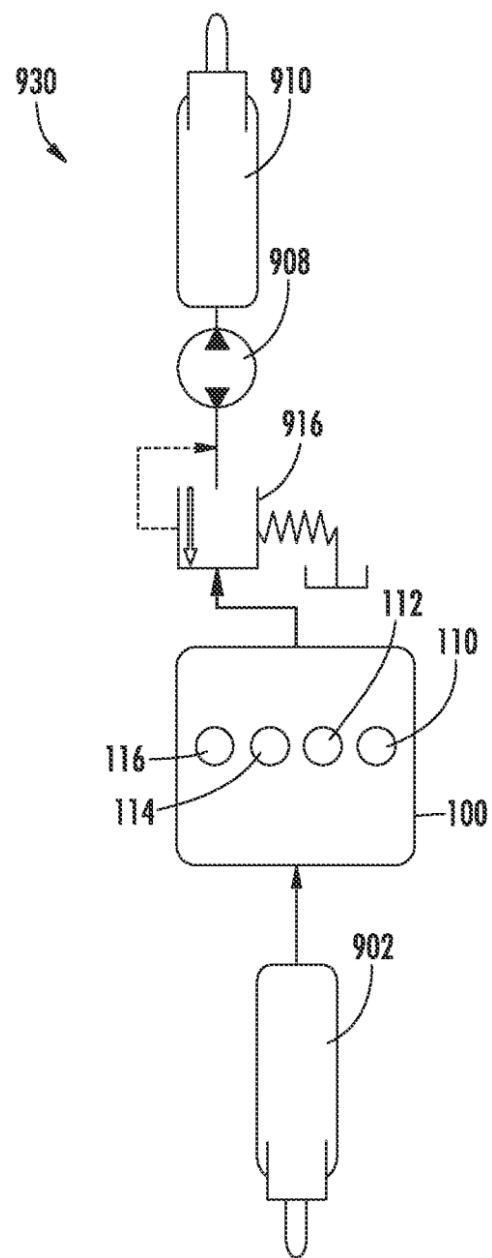


FIG. 9C

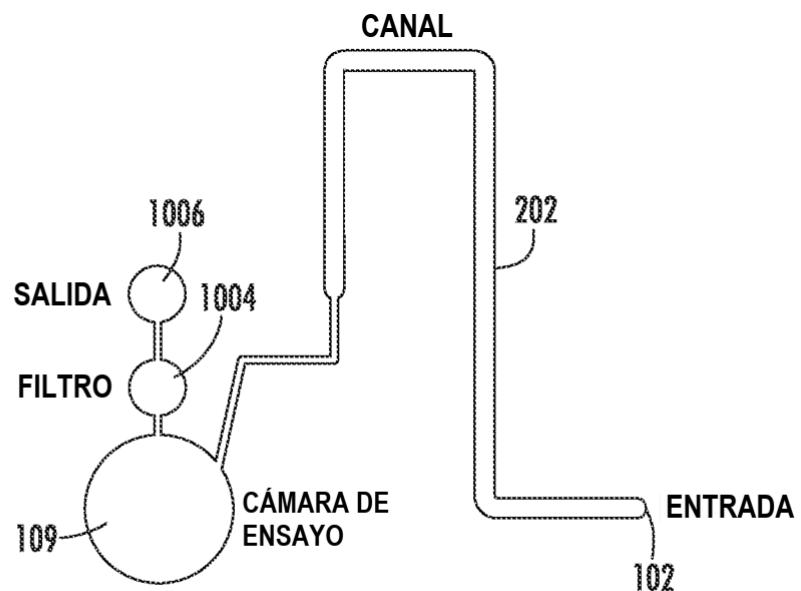


FIG. 10A

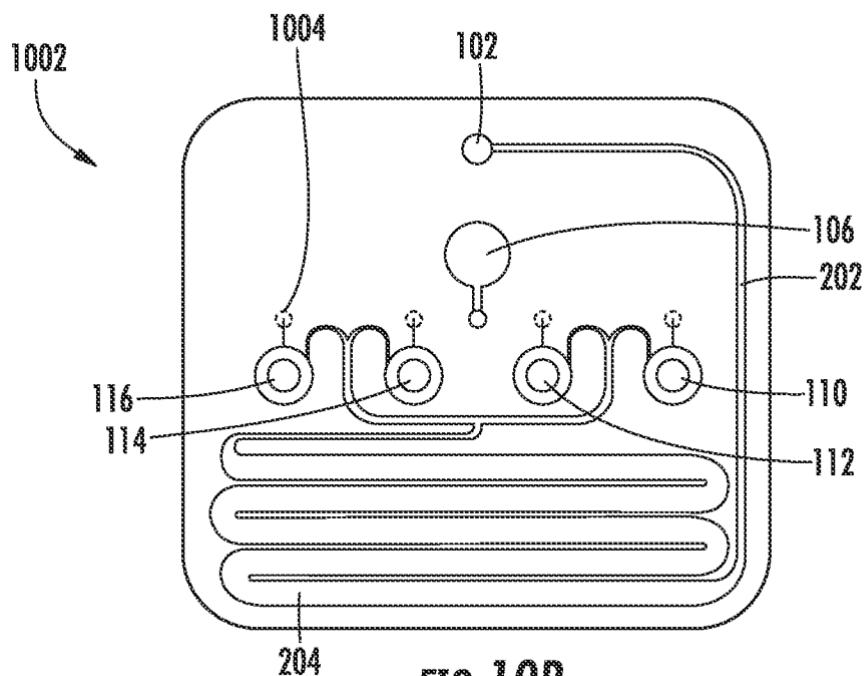


FIG. 10B

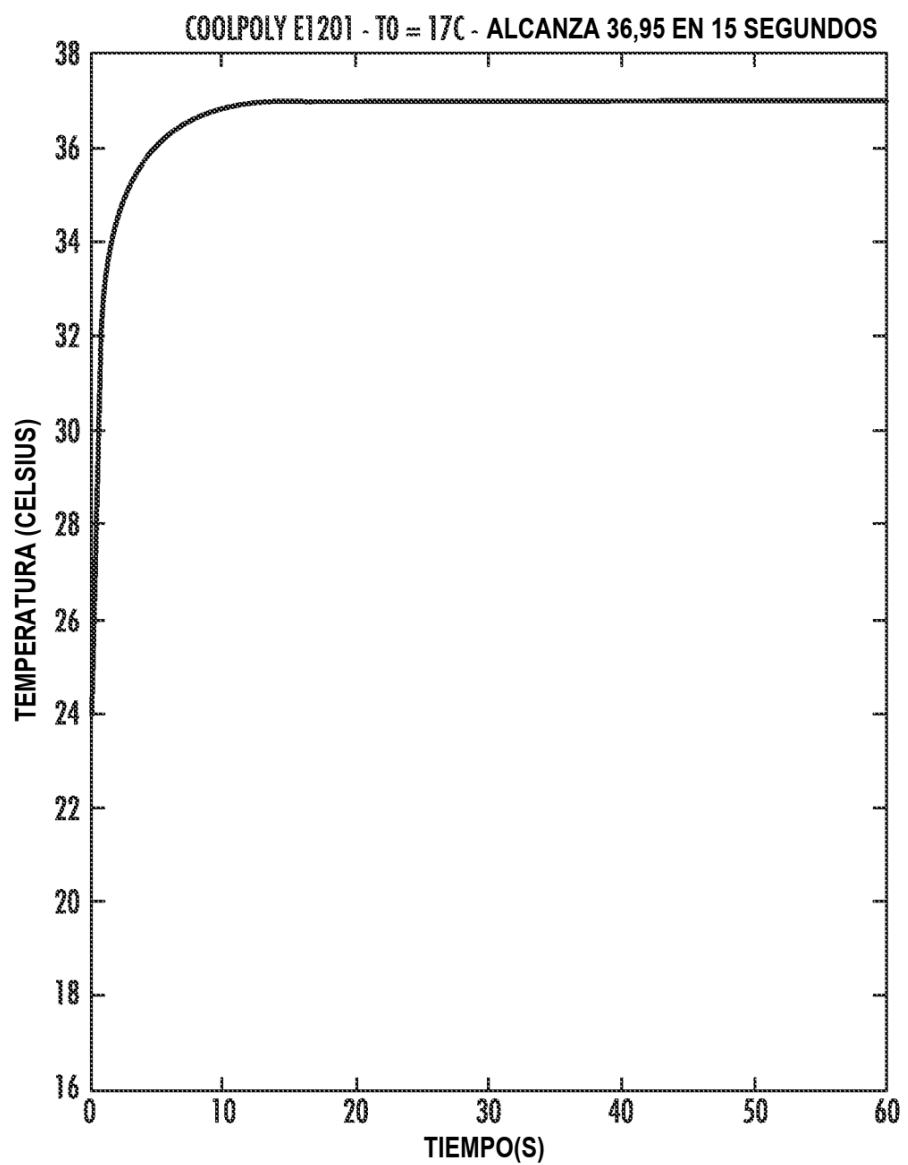


FIG. 11

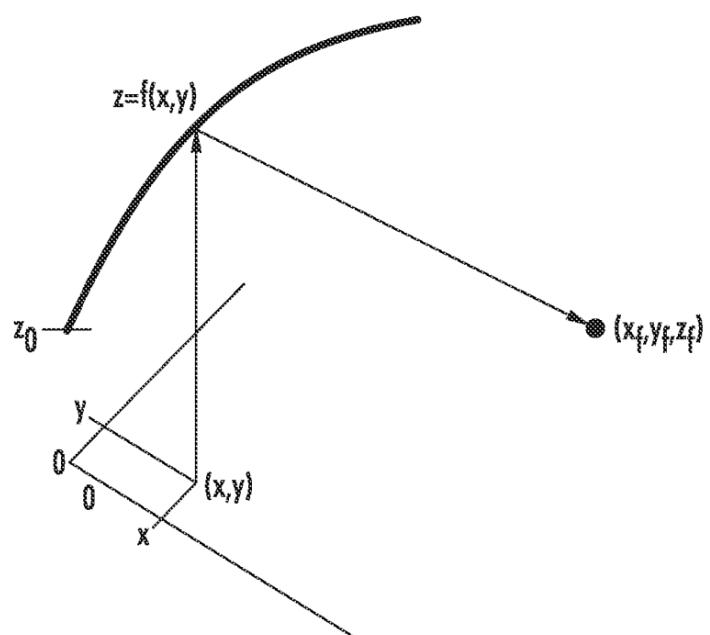


FIG. 12A

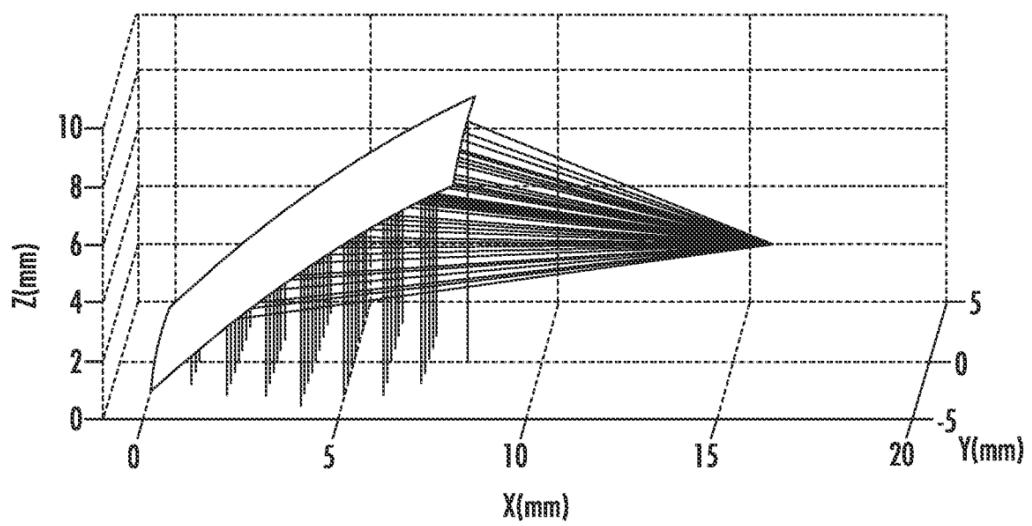


FIG. 12B

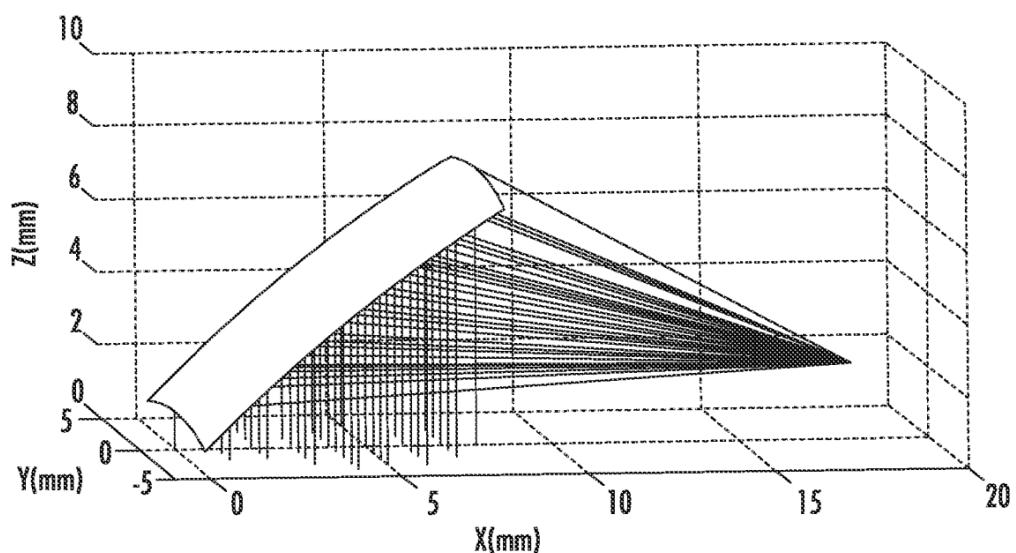


FIG. 12C