



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 275 674**

51 Int. Cl.:
G01N 33/543 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)
B01L 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01926055 .3**
86 Fecha de presentación : **27.04.2001**
87 Número de publicación de la solicitud: **1291654**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **12.03.2003**

54 Título: **Cartucho para medición automática y procedimiento de medida que lo usa.**

30 Prioridad: **28.04.2000 JP 2000-130767**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2007

73 Titular/es: **Mitsubishi Kagaku Iatron, Inc.**
13-1, Nishi-Goken-cho, Shinjuku-ku
Tokyo 162-0812, JP

72 Inventor/es: **Yokoi, Hiroyuki y**
Kurihara, Takashi

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 275 674 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

Cartucho para medición automática y procedimiento de medida que lo usa.

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un cartucho para medición automática que se usa poniéndolo en un dispositivo automático de medida para determinar automáticamente un componente contenido en una muestra, y a un procedimiento automático de medida que usa el cartucho para medición automática.

10 Técnica anterior

Hasta ahora, se han desarrollado diversos analizadores para análisis automáticos de sangre humana. Analizadores de este tipo difieren en gran medida en los intervalos de concentración analizables para diferentes partidas que se han de analizar (por ejemplo, desde mg/ml hasta pg/ml). Dependiendo de las respectivas partidas que se han de analizar, se han seleccionado diferentes procedimientos de análisis (principios de medida) desde, por ejemplo, un procedimiento de inmunoensayo enzimático (EIA), un procedimiento de inmunoensayo de látex (LIA), un procedimiento de inmunoensayo turbidimétrico (TIA), y un procedimiento de inmunoensayo de fluorescencia (FIA), un procedimiento de inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (CLEIA) en consideración a la concentración de las sustancias objetivo. Además, hay partidas que se han de analizar para las que se mide una muestra en forma de una solución sin diluir tal como está, y también hay partidas que se han de analizar para las que se necesita dilución de una muestra antes de la medición de la muestra. Recientemente, han llegado a desarrollarse instrumentos que pueden cubrir por sí solos una pluralidad de clases de partidas que se han de analizar y un amplio intervalo de concentraciones.

Sin embargo, en los instrumentos anteriormente mencionados que realizan procedimientos multi-partida por sí solos, aunque se comparten un dispositivo de dispensación de muestra, un dispositivo de dispensación de reactivo, un pocillo de reacción, etc., se integran en un instrumento único varias clases de módulos que corresponden a los principios de medida, haciendo así que el instrumento tenga un mecanismo muy complicado y sea de gran tamaño. El mecanismo complicado conduce particularmente a un aumento en el número de piezas en funcionamiento, que dan como resultado naturalmente un aumento de problemas tales como averías. Así, el mantenimiento y la inspección diarios, así como el control de la precisión del instrumento llega a ser una gran carga. Además, diferentes principios de medida requerirán naturalmente diferentes procedimientos de análisis para controlar la cantidad de muestra, la clase de reactivo, la cantidad de reactivo, el estado de agitación, el estado de separación de un producto de reacción y un exceso de reactivo uno de otro (separación B/F), el tiempo de reacción, el procedimiento de medida, etc., dependiendo de las respectivas partidas que se han de analizar. Es esencialmente imposible para un único instrumento realizar de modo concurrente una pluralidad de procedimientos de análisis; en las circunstancias actuales, el progreso de procedimientos individuales de análisis se controla estrictamente de modo que diferentes procedimientos de análisis no deberían interferir entre sí. Por lo tanto, en el caso de muestras cuyos partidas que han de ser analizadas difieren entre sí se vayan a medir de modo concurrente, se requiere tiempo de espera (estado de espera), lo que conduce a una disminución en la capacidad de producción, lo cual es una causa de un aumento considerable en el tiempo requerido para la medición.

Además, se han de usar de dos a seis clases de reactivos para cada partida que se ha de analizar, en general. Esto impone al operador una gran carga en la preparación antes de la medición.

En resumen, en los instrumentos convencionales, la complejidad de su mecanismo aumenta la carga de su mantenimiento y del coste de producción del mismo, así como del tiempo requerido para medición y el tiempo y mano de obra para preparar los reactivos necesarios. Éstos llegan a ser grandes problemas particularmente, por ejemplo, en análisis de emergencia y en análisis de diagnóstico inmediato (POCT) que realizan médicos y ayudantes de enfermería.

Para afrontar tales problemas, se ha propuesto un cartucho del tipo "una prueba-un cartucho" para medición automática, lleno con todos los reactivos necesarios para medición en forma de soluciones (documento JP 11-316226 A). Sin embargo, todavía no se ha propuesto un procedimiento para afrontar diferentes diluciones, que se requerirán dependiendo de las partidas que han de ser analizados.

55 Descripción de la invención

Los inventores de la presente invención han descubierto que proporcionando un cartucho con un pocillo de dilución para diluir una muestra, y diluyendo una cantidad predeterminada de la muestra hasta una dilución deseada en el pocillo de dilución, se pueden simplificar los mecanismos del instrumento automático de medida, y se previene que aumente sustancialmente el tiempo requerido para medición incluso cuando se mide una pluralidad de clases de partidas que se han de analizar de modo concurrente, consiguiendo así la presente invención.

Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un cartucho para uso en la medida de un componente que se ha de medir contenido en una muestra, que comprende al menos un pocillo de dilución para diluir una cantidad predeterminada de una muestra hasta una dilución deseada; y un pocillo de reacción en el que el componente que se ha de medir contenido en la muestra y una sustancia que reacciona específicamente con el mismo se hacen reaccionar, en el que una solución de dilución está contenida en el pocillo de dilución en una cantidad suficiente

ES 2 275 674 T3

para obtener la dilución deseada, dependiendo de la clase de componente que se ha de medir, cuando la cantidad predeterminada de la muestra se dispensa en el pocillo de dilución por una operación uniforme.

5 En algunas realizaciones, dos o más líneas de grupos de pocillos se disponen en paralelo, comprendiendo cada grupo de pocillos un pocillo de dilución y un pocillo de reacción.

10 En realizaciones adicionales, un cartucho tiene un pocillo que contiene reactivo para contener un reactivo necesario para la medición, un pocillo de dispensación de muestra para dispensar una muestra, un pocillo de lavado para realizar el lavado del producto de reacción, y/o un pocillo de medida para realizar la medición del producto de reacción.

15 En más realizaciones adicionales, se puede usar un cartucho en medición en combinación con otro cartucho lleno con un reactivo y/o una solución que es o son necesarios para medición del componente que se ha de medir contenido en la muestra.

20 En otras realizaciones adicionales, todos los reactivos y/o las soluciones que son necesarios para la medición de los componentes que se han de medir contenidos en la muestra están cerrados.

25 Para ciertos componentes que se han de medir, la reacción entre el componente que se ha de medir y la sustancia que reacciona específicamente con el mismo es una reacción inmunológica.

30 Para esos componentes, puede ser deseable que la reacción inmunológica sea una reacción en la que el componente que se ha de medir en la muestra y la sustancia que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo se dejen reaccionar para que formen un primer inmunocomplejo, y el primer inmunocomplejo y un marcador que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo se dejen reaccionar para que formen un segundo complejo inmunológico.

35 Según un segundo aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento de medida para un componente que se ha de medir contenido en una muestra, que comprende las etapas de: proporcionar un cartucho como se define en las reivindicaciones 1 a 5; dispensar la cantidad predeterminada de la muestra en el pocillo de dilución, de modo que se diluya la muestra a la dilución deseada en el cartucho; hacer reaccionar el componente que se ha de medir en la muestra diluida con una sustancia que reacciona específicamente con el mismo; y medir una cantidad de un producto de reacción.

40 En ciertas realizaciones, se mide de modo concurrente una pluralidad de diferentes clases de componentes que se han de medir usando un cartucho que tiene dos o más líneas de grupos de pocillos comprendiendo cada grupo de pocillos un pocillo de dilución y un pocillo de reacción, o usando una pluralidad de cartuchos.

45 En realizaciones adicionales, la medición se realiza usando el cartucho de la presente invención y otro cartucho lleno con un reactivo y/o una solución necesarios para la medición del componente que se ha de medir contenido en una muestra.

50 En otras realizaciones adicionales, la reacción entre el componente que se ha de medir y la sustancia que reacciona específicamente con el mismo es una reacción inmunológica.

55 En más realizaciones adicionales, la reacción inmunológica es una reacción en la que el componente que se ha de medir en la muestra y la sustancia que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo se dejan reaccionar para que se forme un primer inmunocomplejo, y el primer inmunocomplejo y un marcador que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo se dejan reaccionar para que se forme un segundo complejo inmunológico, y en la que se mide la cantidad de marcador en el segundo inmunocomplejo formado por la reacción.

60 Según un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un instrumento de medida que comprende al menos una sección de alojamiento de cartucho para alojar el cartucho según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; una sección de dispensación para dispensar un reactivo y/o una muestra al cartucho alojado en la sección de alojamiento de cartucho por una operación uniforme, y una sección de medida para medir un producto de reacción en el cartucho alojado en la sección de alojamiento de cartucho.

Breve descripción de los dibujos

65 La Fig. 1 es un diagrama de un cartucho según el Ejemplo 1. Los símbolos en la figura son como sigue. 1 denota un pocillo de dispensación de muestra; 2, un pocillo de dilución 1; 3, un pocillo de dilución 2; 4, un pocillo que contiene partículas magnéticas (pocillo de reacción 1); 5, un pocillo de lavado 1; 6, un pocillo que contiene anticuerpo marcado (pocillo de reacción 2); 7, un pocillo de lavado 2; y 8, un pocillo fotométrico.

La Fig. 2 es un diagrama de un cartucho según el Ejemplo 2 e ilustración de las condiciones de funcionamiento del mismo. La operación de llenado de reactivos se describe encima del cartucho, y la operación de dilución de una muestra y reacción se describe debajo del cartucho. Los símbolos en la figura son como sigue. DS1 denota un pocillo que contiene solución de dilución 1; DS2, un pocillo que contiene solución de dilución 2; WS, un pocillo que contiene solución de lavado; MP, un pocillo que contiene partículas magnéticas; LA, un pocillo que contiene

anticuerpo marcado; AMPPD, un pocillo que contiene AMPPD; SD, un pocillo de dispensación de muestra; D1, un pocillo de dilución 1; D2, un pocillo de dilución 2; D3, un pocillo de dilución 3; R1, un pocillo de reacción 1; W1, un pocillo de lavado 1; R2, un pocillo de reacción 2; W2, un pocillo de lavado 2; LM, un pocillo fotométrico; y M.P., partículas magnéticas.

5

Descripción detallada

Los términos que se usan en este documento tienen los siguientes significados a menos que se indique específicamente lo contrario.

10

El cartucho de la presente invención se usa cuando se mide un componente que se ha de medir contenido en una muestra, y habitualmente se usa de modo que se ha de instalar en un instrumento automático de medida.

15

La medición anteriormente mencionada se realiza habitualmente por el procedimiento para medir un componente que se ha de medir según la presente invención, procedimiento que comprende las etapas de dispensar una muestra que contiene un componente que se ha de medir, diluir la muestra, hacer reaccionar el componente que se ha de medir contenido en la muestra con una sustancia que reacciona específicamente con el mismo, y medir la cantidad de un producto de reacción.

20

El componente que se ha de medir no está limitado particularmente y se puede usar cualquier componente siempre que exista una sustancia que reaccione específicamente con el componente. Ejemplos de combinación de un componente que se ha de medir y una sustancia que reacciona específicamente con el mismo incluyen un antígeno y un anticuerpo, un anticuerpo y un antígeno, una enzima y un sustrato, una cadena de azúcar y una lecitina, etc. Así, en la presente invención, la expresión “reacciona específicamente o reaccionar específicamente” quiere dar a entender unión bioquímica específica. El componente que se ha de medir o la sustancia que reacciona específicamente con el mismo puede ser una sustancia cuya naturaleza química cambiará entre antes y después de la unión, tal como sustratos.

25

La muestra puede ser cualquier muestra con tal que contenga un componente que se ha de medir o tenga posibilidad de contenerlo. Ejemplos de las mismas pueden incluir sangre, suero, plasma y orina.

30

Las condiciones, por ejemplo, de la etapa de hacer reaccionar el componente que se ha de medir y la sustancia que reacciona específicamente con el mismo, y de la etapa de medir la cantidad de producto de reacción, etc. se pueden seleccionar apropiadamente dependiendo de la combinación del componente que se ha de medir y la sustancia que reacciona específicamente con el mismo. Por ejemplo, la reacción entre una enzima y un sustrato y la medición de la cantidad de producto de reacción se pueden realizar mezclando la enzima con el sustrato para permitir que la enzima actúe sobre el sustrato y midiendo la cantidad de producto de reacción (producto de descomposición del sustrato). La reacción entre un anticuerpo y un antígeno y la medición de la cantidad de producto de reacción se pueden realizar mezclando el anticuerpo o el antígeno con un vehículo en fase sólida que tiene unido al mismo un correspondiente antígeno o anticuerpo y un marcador para formar un producto de reacción (inmunocomplejo), lavando el producto de reacción para retirar el anticuerpo o antígeno sin usar y el marcador sin usar del inmunocomplejo (separación B/F), y midiendo la cantidad de marcador unido a la fase sólida por la formación del inmunocomplejo. Así, en la presente invención, la expresión “medir la cantidad de un producto de reacción” abarca no sólo medir directamente la cantidad del producto de reacción mismo sino también medir la cantidad de una sustancia relacionada cuantitativamente con la cantidad del producto de reacción. A partir de la cantidad así medida del producto de reacción, se puede calcular la cantidad del componente que se ha de medir en la muestra.

45

El cartucho de la presente invención se caracteriza porque comprende al menos un pocillo de dilución para diluir una cantidad predeterminada de la muestra a una dilución deseada y un pocillo de reacción para hacer reaccionar un componente que se ha de medir en la muestra con una sustancia que reacciona específicamente con el componente.

50

Como se ha mencionado anteriormente, la dilución de una muestra puede diferir dependiendo del componente que se ha de medir (partida que se ha de analizar). Sin embargo, cuando se usa el cartucho de la presente invención, sólo se necesita dispensar una cantidad predeterminada de una muestra en la operación de medida sin tener en cuenta cual pueda ser la partida que se ha de analizar, puesto que el cartucho está provisto de un pocillo de dilución para diluir una cantidad predeterminada de la muestra a una dilución deseada. Esto reduce los esfuerzos requeridos por el operador para confirmar la cantidad que se dispensa. Además, esto reduce considerablemente la posibilidad de fallo de la medición debido a un error en la cantidad que se dispensa. En un instrumento automático de medida que usa el cartucho de la presente invención incorporándolo al mismo, el mecanismo de cambio de cantidad que se dispensa de una muestra que depende de la partida que se ha de analizar ya no llega a ser necesario, de modo que el mecanismo se puede simplificar. En el caso en que se realice dilución de muestra a una dilución elevada, se prefiere que se proporcionen en el cartucho dos o más pocillos de dilución y se realicen diluciones en dos escalones o más.

60

Como se ha indicado anteriormente, el cartucho de la presente invención incluye aquel que es capaz de manejar diferentes condiciones para analizar por medio de una operación uniforme y adicionalmente aquel que está provisto de dos o más líneas de grupos de pocillos, requeridas para la medición de componentes que se han de medir, dispuestas en paralelo. Alternativamente, se pueden realizar de modo concurrente mediciones de una pluralidad de clases de diferentes componentes que se han de medir usando una pluralidad de cartuchos. Por lo tanto, cuando se usa el cartucho de la presente invención, ni aumentará considerablemente el tiempo requerido para la medición incluso en el caso de

65

ES 2 275 674 T3

mediciones de una pluralidad de clases de diferentes componentes que se han de medir, ni se cambiará el mecanismo del instrumento automático de medición que se ha de usar.

5 La dilución de una muestra y la solución de dilución que se ha de llenar en el pocillo de dilución se pueden seleccionar apropiadamente dependiendo, por ejemplo, de las clases de muestra, componentes que se han de medir, y sustancias que reaccionan específicamente con los componentes que se han de medir. La solución de dilución puede contener un reactivo necesario para tratamiento previo de la muestra. Si lo contiene, la dilución y el tratamiento previo se realizan de modo concurrente en el pocillo de dilución.

10 El cartucho de la presente invención puede tener un pocillo que contiene reactivo para contener un reactivo necesario para la medición del componente que se ha de medir contenido en la muestra. El pocillo que contiene reactivo también puede servir como pocillo de reacción. En otras palabras, una porción del reactivo que participa en la reacción puede estar contenida en un pocillo de reacción. El reactivo que se ha de contener en el pocillo que contiene reactivo o en el pocillo de reacción puede incluir una especie o una pluralidad de especies siempre que los reactivos contenidos
15 no reaccionen entre sí. El reactivo que se ha de contener puede ser líquido (por ejemplo, solución o suspensión), o sólido siempre que se pueda disolver o suspender en la solución que se ha de inyectar en el pocillo.

Se prefiere que el cartucho de la presente invención tenga adicionalmente un pocillo de dispensación de muestra para dispensar una muestra. Con esta construcción, se puede añadir una cantidad predeterminada de la muestra por medio de un proceso uniforme al pocillo de dilución desde el pocillo de dispensación de muestra al que se ha dispensado la muestra. Además, cuando se dispensa una muestra al cartucho desde un recipiente en el que se ha recogido la muestra, se hace innecesario el control estricto de la cantidad de muestra y la operación llega a ser fácil para el operador. Además, en el instrumento automático de medida en el que se instala el cartucho de la presente invención, es innecesario proporcionar un mecanismo adicional tal como un mecanismo de cuantificar y dispensar directamente
25 la muestra desde un recipiente maestro de muestra fuera del cartucho para dispensar una cantidad predeterminada de la muestra, de modo que el mecanismo se puede simplificar.

El cartucho de la presente invención también puede tener un pocillo de medida para medir la cantidad de un producto de reacción. Por ejemplo, se puede proporcionar un pocillo fotométrico para medición óptica. Aquí, en el caso en que se desee una condición de medición especial, por ejemplo, el caso en el que la medición se tenga que realizar bajo condiciones oscuras, el pocillo de medida se puede proporcionar en un cartucho separado o en una forma separable.

La forma y tamaño del cartucho de la presente invención no están particularmente limitados. Sin embargo, para fácil manejo por el operador, el cartucho es preferiblemente, por ejemplo, de forma de barco en la que se disponen linealmente un pocillo que contiene reactivo, un pocillo de dispensación de muestra, un pocillo de dilución, un pocillo de reacción y/o un pocillo de medida. Se puede usar una pluralidad de pocillos para cada tipo de pocillo. Además, para la medición de una pluralidad de clases de partidas que se han de analizar, se puede usar el cartucho de la presente invención que tenga dos o más líneas de grupos de pocillos necesarios dispuestos en paralelo como se ha descrito anteriormente. El material del cartucho de la presente invención no se limita particularmente pero se prefiere un material transparente puesto que es posible la medición óptica a través de la pared del cartucho.

En el cartucho de la presente invención, la reacción entre el componente que se ha de medir y la sustancia que reacciona específicamente con el mismo es preferiblemente una reacción inmunológica. Esto es, se prefiere que el componente que se ha de medir y la sustancia que reacciona específicamente con el mismo sean un anticuerpo y un antígeno.

La reacción inmunológica es preferiblemente aquella en la que un componente que se ha de medir en una muestra se hace reaccionar con una sustancia que reacciona específicamente con el mismo para formar un primer inmunocomplejo y luego el primer inmunocomplejo se hace reaccionar con un marcador que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo para formar un segundo inmunocomplejo. En este caso, el cartucho de la presente invención tiene preferiblemente un pocillo de reacción para formar el primer inmunocomplejo y un pocillo de reacción para formar el segundo inmunocomplejo. Más preferiblemente, el cartucho de la presente invención tiene pocillos de lavado para separación B/F correspondientes a los pocillos de reacción respectivos. Los pocillos de lavado se pueden llenar con una solución de lavado con antelación o se pueden llenar por dispensación, por ejemplo, desde otro cartucho o botella.

El reactivo y/o la solución necesarios para la medición del componente que se ha de medir contenido en una muestra, usados en la presente invención, se pueden llenar en otro cartucho con antelación y el cartucho se puede usar en combinación con el cartucho de la presente invención en la realización de la medición. Por ejemplo, la medición se puede realizar llenando una solución de dilución de una muestra, una sustancia y un marcador que reacciona específicamente con el componente que se ha de medir en la muestra, y una solución de lavado, etc. para lavar el inmunocomplejo resultante en otro cartucho con antelación, y dispensando el reactivo y/o la solución al cartucho de la presente invención por una operación uniforme. Por medio de un procedimiento de este tipo, el mecanismo del instrumento se puede simplificar y la estructura del cartucho de la presente invención se puede simplificar y hacer más pequeño. Además, llega a ser fácil resolver el problema de la estabilidad en el almacenamiento del reactivo y/o la solución que se han de usar. Evidentemente, es posible llenar los reactivos y/o soluciones necesarias para la medición tanto en el cartucho de la invención como en otro cartucho y usarlos en combinación.

ES 2 275 674 T3

Todos los reactivos y/o las soluciones necesarias para la medición del componente que se ha de medir contenido en una muestra se pueden llenar en el cartucho de la presente invención. Se prefiere que todos los reactivos necesarios, por ejemplo, una solución de dilución de una muestra, una sustancia y un marcador que reaccionan específicamente con el componente que se ha de medir en la muestra, y una solución de lavado, etc. para lavar el inmunocomplejo
5 resultante se llenen con antelación en el cartucho de la presente invención. Haciéndolo así, el uso de un cartucho para un componente que se ha de medir facilita el manejo de todos los casos, de modo que se pueden ahorrar reactivos y residuos. El suministro de agua o la descarga de agua llegan a ser innecesarios, lo que conduce a simplificación adicional del instrumento de medida y a reducción del tiempo requerido para la medición.

10 Se prefiere que el cartucho de la presente invención, cuando se llena, por ejemplo, con reactivos y/o soluciones, y similares tales como una solución de dilución, un marcador, una solución de lavado, y similares con antelación, se cierre preferiblemente con una hoja de aluminio estratificada, una película de plástico o similar sobre la parte superior para prevenir la contaminación con materia extraña y evaporación/deterioro de los reactivos. Se prefieren particularmente los cierres de hoja de aluminio estratificada puesto que se pueden abrir automáticamente con facilidad
15 por un mecanismo de perforación en el instrumento automático de medida. En el caso en que el (los) reactivo(s) y/o solución(es) y similares se llenen en otro cartucho y la medición se realice usando el cartucho en combinación, también se prefiere que el cartucho se cierre.

Sobre el cartucho de la presente invención, se puede fijar por impresión, aplicación o similares, un código de
20 barras que codifica información sobre la muestra, información sobre las partidas que se han de analizar, información sobre el control del reactivo, etc. La fijación de un código de barras de este tipo sobre el cartucho hace posible lo siguiente: cuando se usa un instrumento automático de medida que reconoce el código de barras sobre el cartucho y automáticamente selecciona un partida para analizar, el operador puede medir fácilmente y eficazmente cualquier
25 partida o partidas que se han de analizar usando un único instrumento automático de medida meramente seleccionando un cartucho o unos cartuchos apropiados. Esto también elimina la necesidad de realizar una operación de hoja de trabajo que ha sido una causa importante de ubicación errónea de partidas que se han de analizar cuando se ha realizado en instrumentos automáticos de medida convencionales comunes y facilita la realización de medición de una pluralidad de clases de partidas que se han de analizar sin fallo y con comodidad. Además, el almacenamiento y control de reactivos llega a ser fácil.

30 En el procedimiento de medida de la presente invención, en el caso en que la muestra contenga una pluralidad de clases de componentes que se han de medir, se prefiere medir de modo concurrente la pluralidad de clases de diferentes componentes que se han de medir usando una pluralidad de cartuchos o un cartucho en el que dos o más líneas de grupos de pocillos se disponen en paralelo. En un caso de este tipo, se prefiere que se haga uso de un
35 instrumento automático de medida que sea capaz de medir de modo concurrente una pluralidad de partidas que se han de analizar en paralelo y en el que se pueda instalar una pluralidad de cartuchos de la presente invención, o un instrumento automático de medida en el que se pueda instalar el cartucho de la presente invención que tiene pocillos que corresponden a una pluralidad de partidas que se han de analizar (dos o más líneas de grupos de pocillos que se disponen en paralelo).

40 En el instrumento automático en el que se instalan el cartucho o cartuchos de la presente invención cuando están en uso, se pueden usar medios conocidos, respectivamente, como medios para aspirar una cantidad predeterminada de un líquido de un pocillo y dispensarla a otro pocillo, medios para mezclar el contenido en el pocillo, medios para realizar separación B/F, medios para medir la cantidad de un producto de reacción o de un marcador, medios para
45 calcular la cantidad del componente que se ha de medir desde el resultado de la medición de la cantidad de producto de reacción o del marcador, medios para controlar la temperatura de un cartucho, medios para reconocer un código de barras, medios para realizar de modo concurrente medición de una pluralidad de cartuchos, y así sucesivamente.

50 De aquí en adelante, la presente invención se ilustrará con referencia a un inmunoensayo, más particularmente, inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (CLEIA), según un ejemplo de un aspecto preferido.

Un cartucho según un aspecto preferido es un cartucho para medición automática que se ha de usar de modo que se instale en un instrumento automático de medida que cuantifique automáticamente un componente que se ha de medir en una muestra. Este cartucho tiene un pocillo de reacción para hacer reaccionar el componente que se ha de medir con
55 la sustancia que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo, una pluralidad de pocillos que contienen reactivo para llenar con reactivos que se han de usar, respectivamente, en la reacción, un pocillo de dispensación de muestra para dispensar una muestra, un pocillo de dilución para diluir la muestra, un pocillo de lavado para realizar separación B/F, y/o un pocillo fotométrico. Como se ha descrito anteriormente, el pocillo que contiene reactivo también puede servir como pocillo de reacción. Preferiblemente estos pocillos se usan como sigue. El pocillo de dilución se
60 llena con una solución de dilución en una cantidad suficiente para diluir una cantidad predeterminada de la muestra a una dilución deseada. Se llena una pluralidad de pocillos que contienen reactivo individualmente con un vehículo en fase sólida para llevar a cabo la reacción inmunológica específica, un antígeno o anticuerpo marcado, un reactivo para realizar la medición de la cantidad del marcador, etc. El pocillo de lavado se llena con una solución de lavado para lavar los inmunocomplejos.

65 En el pocillo del cartucho que contiene reactivo, por ejemplo, se coloca un vehículo sólido (fase sólida sensibilizada) que tiene unido al mismo un antígeno o anticuerpo, de modo que el pocillo puede servir también como pocillo de reacción. El vehículo en fase sólida puede incluir gránulos de poliestireno, partículas magnéticas y similares que se

ES 2 275 674 T3

han usado convencionalmente en inmunoensayo. Además, también es posible que no se añada vehículo en fase sólida al pocillo, sino que se use un anticuerpo o un antígeno de modo que se inmovilice en la pared interior del pocillo.

5 El inmunoensayo que se ha de usar en la presente invención es preferiblemente un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (CLEIA) que es ventajoso con respecto a la sensibilidad. El vehículo en fase sólida comprende preferiblemente partículas magnéticas cuya separación B/F se puede realizar fácilmente por medio de un imán. La separación B/F se puede realizar por aplicación de un campo magnético al cartucho desde fuera del mismo por medio del uso de un imán permanente, un electroimán o similares. También, como se describe en el documento JP 11-262678 A, se puede realizar la aplicación de un campo magnético utilizando un imán provisto en los lados de aspiración y dispensación de la punta de pipeta, etc., del dispensador.

15 Los otros pocillos que contienen reactivos también pueden servir como pocillo de reacción añadiendo a los mismos un antígeno o un anticuerpo marcado. Por ejemplo, ejemplos del marcador incluyen radioisótopos de enzimas, sustancias colorantes, sustancias fluorescentes, y sustancias luminiscentes, diversas partículas coloreadas. En el inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (CLEIA), se usan preferiblemente enzimas. Ejemplos de una enzima marcadora de este tipo incluyen fosfatasa alcalina, peroxidasa, galactosidasa, y glucooxidasa. Como sustratos para las enzimas marcadoras, se usan adecuadamente los sustratos que corresponden a las respectivas enzimas. Por ejemplo, se puede usar adamantil metoxifenil fosforil dioxetano (AMPPD) para fosfatasa alcalina, se puede usar luminol/peróxido para peroxidasa, y se puede usar adamantil metoxifenil- β -D-galactosildioxetano (AMPGD) para galactosidasa.

20 Una cantidad predeterminada de solución de dilución para cada partida para analizar se llena con antelación en el pocillo de dilución. Por ejemplo, en el caso en que se han de analizar dos partidas diferentes, esto es, se han de medir anticuerpo del virus de hepatitis C (VHC) y antígeno HBs (HBsAg), ubicando idénticamente la cantidad de muestra, la cantidad de solución de reactivo del vehículo en fase sólida, la cantidad de solución de reactivo de antígeno o anticuerpo marcado, la cantidad de solución de lavado, y las condiciones de medida para marcadores, etc. para las dos partidas y usando un cartucho con las cantidades de la solución de dilución llenas en los pocillos de dilución que son diferentes para las dos partidas en un instrumento automático de medida provisto con dos o más mecanismos para realizar una serie de procedimientos de inmunorreacción en paralelo facilita el procesamiento concurrente de las dos partidas por la misma etapa de análisis.

30 En el caso en que se haya de realizar una alta dilución de una muestra, se prefiere que se proporcionen dos o más pocillos de dilución en el cartucho, de modo que se realicen dos o más diluciones escalonadas. La Fig. 1 ilustra un ejemplo de un cartucho de este tipo. Esto es, en el caso del anticuerpo de VHC, puesto que existen en la muestra unas cantidades relativamente grandes de componentes que se han de medir es necesario por tanto medir la muestra después de haberla diluido previamente, se usa un cartucho para el anticuerpo de VHC con un pocillo de dilución 1 (2) en el que se llenan con antelación 500 μ l de una solución de dilución y un pocillo de dilución 2 (3) en el que se llenan con antelación 335 μ l de la solución de dilución. Se aspira la muestra en una cantidad de 70 μ l desde un pocillo de dispensación de muestra (1) y la totalidad de los 70 μ l de ella se dispensan a un pocillo de dilución 1 (2) por medio de mecanismos de aspiración/dispensación de líquido del instrumento automático de medida y se mezclan con 500 μ l de la solución de dilución, dando una dilución de aproximadamente 8,1 veces ($570/70 = 8,14$) en este primer escalón de dilución. Luego, se aspiran 65 μ l de la muestra diluida en el primer escalón desde el pocillo de dilución 1 (2) y se dispensa la cantidad total de ella en el pocillo de dilución 2 (3) y se mezcla con 335 μ l de la solución de dilución. En este segundo escalón de dilución, la muestra se diluyó aproximadamente 50 veces ($570/70 \times 400/65 = 50,1$). Por último, se aspiran 60 μ l de la muestra diluida en el segundo escalón desde el pocillo de dilución 2 (3), y 60 μ l de la muestra finalmente diluida 50 veces se dispensan en un pocillo de reacción (4). Por otra parte, HBsAg es una partida para analizar que requiere alta sensibilidad, se usa la muestra según está en forma de solución madre sin dilución. Usando un cartucho para HBsAg en el que no se llena nada en el pocillo de dilución 1 (2) ni en el pocillo de dilución 2 (3), se aspiran 70 μ l de cada muestra de la misma manera que con el anticuerpo de VHC anteriormente mencionado y de modo concurrente con el mismo desde un pocillo de dispensación de muestra (1) y la totalidad de los 70 μ l de ella se dispensa al pocillo de dilución (3) y luego se aspiran 65 μ l desde el pocillo de dilución 1 (2) y se dispensa la cantidad total de ella al pocillo de dilución 2 (3). Por último, se aspiran 60 μ l desde el pocillo de dilución 2 (3), y la totalidad de los 60 μ l se dispensa al pocillo de reacción. Puesto que el pocillo de dilución no se llena con una solución de dilución, la dilución de la muestra no se realiza y finalmente una porción de 60 μ l de la muestra como solución madre se dispensa al pocillo de reacción (4). Así, en la presente invención es posible medir de modo concurrente diferentes partidas que se han de analizar incluso usando un instrumento que realiza sólo un modelo único de procedimiento de análisis.

60 Evidentemente, la dilución de una muestra no se limita a 50 veces como en el ejemplo anteriormente mencionado sino que se puede cambiar a una dilución deseada de 1 ó más veces dependiendo de la cantidad de solución de dilución que se ha de llenar en el pocillo de dilución. Para que una cantidad predeterminada se introduzca exactamente en el pocillo de reacción incluso cuando la dilución es 1 en consideración de la adhesión a la pared del pocillo, se prefiere que la cantidad de aspiración se ajuste para que sea más pequeña que la cantidad de dispensación en el pocillo de dilución.

65 Como anteriormente mencionado, se puede realizar la medición usando en combinación un primer cartucho y otro cartucho en el que se llena(n) un reactivo y/o una solución necesaria para la medida. Por ejemplo, se usa el primer cartucho que tiene un pocillo de dispensación de muestra, un pocillo de dilución, un pocillo de reacción, un pocillo de lavado y un pocillo fotométrico, sin llenar ningún reactivo ni solución en el mismo. En contraposición, una solución

ES 2 275 674 T3

de dilución, un vehículo en fase sólida, un antígeno o anticuerpo marcado, un reactivo para medir la cantidad de un marcador, etc., se llenan en otro cartucho desde el que se dispensan realizando la operación de dispensación, y la medición se puede realizar de la misma manera que anteriormente. La Fig. 2 muestra un ejemplo de un cartucho de este aspecto.

5 En la etapa de dilución de la muestra, se puede realizar tratamiento previo de una muestra añadiendo un ácido, un álcali, un disolvente orgánico, un desnaturalizante de proteína, un detergente, etc. a la solución de dilución. Por ejemplo, en el caso en que se use sangre (sangre entera) como muestra, se prefiere que el tratamiento previo se realice añadiendo algún detergente deseado, etc. puesto que la sangre contiene una gran cantidad de sustancias de interferencia y por algunas otras razones. Realizando de modo concurrente la dilución y el tratamiento previo de la muestra de esta manera, se puede realizar fácilmente una medición de alta precisión incluso cuando la sangre y similares se usan como muestras. Como resultado, la presente invención se puede usar preferiblemente en pruebas de emergencia y se pueden realizar pruebas cerca del paciente (POCT) por médicos y ayudantes de enfermería.

15 La solución de lavado para el lavado de muestra y marcador sin reaccionar de los inmunocomplejos (separación B/F) requiere mucho gasto de tiempo y esfuerzo para preparar la solución de lavado, completándolo durante la medición y eliminación del residuo líquido cuando la solución de lavado se suministra desde una parte de los dispositivos en el instrumento automático de medida como se ha visto en el instrumento automático de medida convencional. La solución de lavado que se usa en el instrumento automático de medida convencional se estandariza con respecto a la composición y cantidad de líquido de la solución de lavado sin tener en cuenta las partidas que se han de analizar, de modo que es imposible adoptar una composición óptima de la solución de lavado para cada partida para analizar. Desde los puntos de vista anteriormente mencionados, se prefiere que la solución de lavado esté contenida también en un cartucho. Sin embargo, en el caso en que, por ejemplo, la composición o la cantidad de líquido sea idéntica, la solución de lavado se puede suministrar uniformemente desde una parte de los dispositivos en el instrumento automático de medida según se describe anteriormente.

20 Para acelerar la reacción, se prefiere que se fije al instrumento automático de medida, en el que se instala el cartucho de la presente invención cuando está en uso, un mecanismo para mantener el cartucho de la presente invención a la temperatura necesaria, por ejemplo, en el intervalo de 35 a 45°C que es adecuado para reacciones enzimáticas.

30 La medición de marcadores se puede realizar como sigue. Por ejemplo, en el caso de inmunoensayo enzimático quimioluminiscente, la medición se puede realizar directamente a través de un pocillo fotométrico por medio del uso de un fotomultiplicador, etc., después de mezclar un inmunocomplejo y un sustrato para una enzima marcadora. En el caso de inmunoensayo enzimático, la medición se puede realizar después de mezclar un inmunocomplejo con una solución de sustrato de enzima irradiando luz de medida que tiene una longitud de onda que se ha de medir desde el fondo o el lateral de un pocillo de medida y midiendo la luz transmitida que pasa a través de el pocillo fotométrico.

35 El instrumento automático de medida en el que se instala el cartucho de la presente invención cuando está en uso incluye al menos una sección de alojamiento de cartucho para alojar un cartucho, una sección de dispensación para dispensar un reactivo y/o una muestra al cartucho alojado en la sección de alojamiento de cartucho, y una sección de medida para medir un producto de reacción sobre el cartucho alojado en la sección de alojamiento de cartucho. La sección de alojamiento de cartucho puede ser la misma que una sección de alojamiento de cartucho convencional excepto que está hecha para que tenga una estructura capaz de alojar el cartucho de la presente invención. La sección de dispensación está constituida por mecanismos convencionales tales como mecanismos de aspiración/dispensación de líquido, etc. correspondientes a las clases y propiedades del reactivo y/o de la muestra. El término "dispensación" según se usa en este documento abarca ambas operaciones siguientes: transferir un reactivo y/o una muestra desde fuera de un cartucho a un pocillo en el cartucho, y transferir un reactivo y/o una muestra desde un pocillo a otro pocillo en un cartucho. La sección de medida está constituida por mecanismos convencionales tales como mecanismos fotométricos que dependen de las clases y propiedades del producto de reacción. En el caso en que la medición se realice usando el cartucho de la presente invención, que tiene provistas en el mismo dos o más líneas de grupos de pocillos en paralelo o una pluralidad de cartuchos de la presente invención, el instrumento automático de medida es preferiblemente un instrumento que tiene provistas en paralelo en el mismo una pluralidad de mecanismos para realizar una serie de inmunorreacciones y capaz de operar y controlar de modo concurrente los procedimientos, por ejemplo, de dispensar una muestra, diluir la muestra, dispensar un reactivo, separación B/F y fotometría. De esta manera, incluso en el caso de inmunoensayo, una pluralidad de partidas que se han de analizar se puede medir de modo concurrente usando un instrumento que realiza sólo un modelo único de procedimiento de análisis sin aumentar sustancialmente el tiempo requerido para la medición incluso para diferentes partidas que se han de analizar.

40 Se prefiere que la sección de dispensación incluya piezas (puntas, etc.) que pongan en contacto un reactivo y/o una muestra capaces de ser intercambiadas. Reemplazando las piezas con unas nuevas a cada medición, se puede prevenir fácilmente la contaminación del cartucho que se ha de usar en una medición posterior.

45 Como se ha mencionado anteriormente, se prefiere que la medición se realice fijando un código de barras al cartucho de la presente invención y usando un instrumento provisto de un mecanismo para reconocer el código de barras. Usando un instrumento que puede reconocer un código de barras y seleccionando automáticamente una partida para analizar, se puede realizar más fácilmente y más eficazmente la medición automática de una pluralidad de partidas que se ha de analizar; por ejemplo, el ajuste individual de la temperatura de reacción y de las condiciones fotométricas llega a ser innecesario, y el análisis de resultados de la medición se puede realizar fácilmente.

Ejemplos

De aquí en adelante, la presente invención se ilustrará con más detalle por medio de ejemplos. Sin embargo, los siguientes ejemplos son meramente ilustrativos y no debería considerarse que el alcance de la presente invención esté limitado por los siguientes ejemplos. Es evidente para un experto en la materia que se pueden hacer variaciones, mejoras o modificaciones a la presente invención sin apartarse del alcance de las reivindicaciones.

Ejemplo de preparación 1

10 *Preparación de reactivo y solución*

Se prepararon los respectivos reactivos y soluciones necesarias para la medición de antígeno HBs (HBsAg), anticuerpo de virus de hepatitis C (VHC), anticuerpo de virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), anticuerpo de virus 1 de leucemia de células T humanas (HTLV-1) y anticuerpo de *Treponema pallidum* (TP).

15 *1. Preparación de partículas magnéticas*

Se absorbió físicamente anticuerpo policlonal anti-HBsAg sobre partículas magnéticas (0,3 μm) en tampón de fosfato 50 mM (pH 4) y las partículas resultantes se trataron en tampón Tris (0,1 M pH 8) que contenía 0,2% de BSA a 37°C durante 1 día para preparar partículas magnéticas unidas a anticuerpo anti-HBsAg.

De modo similar, antígeno de VHC, antígeno de VIH, antígeno de HTLV-1, y antígeno de TP se sometieron al mismo tratamiento como anteriormente para preparar, respectivamente, partículas magnéticas unidas a antígeno de VHC, partículas magnéticas unidas a antígeno de VIH, partículas magnéticas unidas a antígeno de HTLV-1, partículas magnéticas unidas a antígeno de TP.

Las partículas magnéticas preparadas se suspendieron en tampón Tris 0,1 M (pH 8,0) y se usaron luego (las concentraciones se ajustaron individualmente para cada partida entre 100 y 200 $\mu\text{g/ml}$).

30 *2. Preparación de anticuerpo marcado*

Se unió anticuerpo monoclonal anti-HBsAg a fosfatasa alcalina bovina (ALP) por un procedimiento de maleimida para preparar anticuerpo de HBsAg marcado con ALP. De modo similar, se usó anticuerpo monoclonal anti-IgC humana para preparar anticuerpo anti-IgC humana marcado con ALP. Los anticuerpos marcados preparados se disolvieron en tampón Tris 0,1 M (pH 8,0) y se usaron (las concentraciones se ajustaron individualmente para cada partida entre 0,2 y 0,5 $\mu\text{g/ml}$).

3. Preparación de solución de lavado

40 Se preparó tampón Tris 0,1 M (pH 8,0) que contenía 0,1% de Tween 20 y NaCl 0,15 M.

4. Preparación de solución de dilución

45 Se preparó tampón Tris 0,1 M (pH 8,0) que contenía 1% de BSA y NaCl 0,15 M.

5. Sustrato luminiscente

Se usó solución de AMPPD 25 mM (Tropix Co.) como sustrato luminiscente.

50 Ejemplo 1

Mediciones (A) de HBsAg, anticuerpo de VHC, anticuerpo de VIH, anticuerpo de HTLV-1 y anticuerpo de TP

Se realizaron mediciones usando un cartucho hecho de poliestireno que se muestra en la Fig. 1. Después de llenar los respectivos reactivos y soluciones preparados en los puntos 1 a 5 del Ejemplo de preparación 1 anteriormente descrito en un pocillo de dilución 1 (2), un pocillo de dilución 2 (3), un pocillo que contiene partículas magnéticas (4), un pocillo que contiene anticuerpo marcado (6), un pocillo de lavado 1 (5), un pocillo de lavado 2 (7), y un pocillo fotométrico (8), la parte superior de cada pocillo que contiene reactivo se cerró con hoja de aluminio estratificada. La posición de llenado y la cantidad de llenado fueron como sigue.

65

ES 2 275 674 T3

TABLA 1

5		Cartucho para HBsAg	Cartucho para anticuerpo de VHC	Cartucho para anticuerpo de VIH	Cartucho para anticuerpo de HTLV-1	Cartucho para anticuerpo de TP
10						
15	Pocillos de dispensación de muestra	Vacios	Vacios	Vacios	Vacios	Vacios
20	Pocillo de dilución 1	Vacio	Solución de dilución de muestra 500 μ l	Solución de dilución de muestra 500 μ l	Solución de dilución de muestra 500 μ l	Solución de dilución de muestra 500 μ l
25	Pocillo de dilución 2	Vacio	Solución de dilución de muestra 335 μ l	Solución de dilución de muestra 335 μ l	Solución de dilución de muestra 335 μ l	Solución de dilución de muestra 335 μ l
30						
35	Pocillo que contiene partículas magnéticas (pocillo de reacción 1)	Partículas magnéticas unidas a anticuerpo anti-HBsAg 150 μ l	Partículas magnéticas unidas a antígeno de VHC 150 μ l	Partículas magnéticas unidas a antígeno de VIH 150 μ l	Partículas magnéticas unidas a antígeno de HTLV-1 150 μ l	Partículas magnéticas unidas a antígeno de TP 150 μ l
40						
45	Pocillo de lavado 1	Solución de lavado 500 μ l	Solución de lavado 500 μ l	Solución de lavado 500 μ l	Solución de lavado 500 μ l	Solución de lavado 500 μ l
50	Pocillo que contiene anticuerpo marcado (pocillo de reacción 2)	Anticuerpo anti-HBsAg humano marcado con ALP 150 μ l	Anticuerpo anti-IgG humana marcado con ALP 150 μ l	Anticuerpo anti-IgG humana marcado con ALP 150 μ l	Anticuerpo anti-IgG humana marcado con ALP 150 μ l	Anticuerpo anti-IgG humana marcado con ALP 150 μ l
55						
60	Pocillo de lavado 2	Solución de lavado 500 μ l	Solución de lavado 500 μ l	Solución de lavado 500 μ l	Solución de lavado 500 μ l	Solución de lavado 500 μ l
65	Pocillo fotométrico	Solución de AMPPD 200 μ l	Solución de AMPPD 200 μ l	Solución de AMPPD 200 μ l	Solución de AMPPD 200 μ l	Solución de AMPPD 200 μ l

ES 2 275 674 T3

Los cinco tipos de cartuchos de reactivos preparados se midieron de modo concurrente por medio de un instrumento automático de medida provisto de mecanismos quíntuples de aspiración/dispensación y mecanismos quíntuples de separación de partículas magnéticas en conformidad con las siguientes etapas.

- 5 (1) Se dispensaron muestras (suero de control negativo y suero de control positivo) en una cantidad de 70 μl o más en los respectivos pocillos de dispensación de muestra en el cartucho para HBsAg, cartucho para anticuerpo de VHC, cartucho para anticuerpo de VIH, cartucho para anticuerpo de HTLV-1, y cartucho para anticuerpo de TP.
- 10 (2) Los cartuchos de reactivo sobre los que se ha dispensado una muestra se instalan en un instrumento automático de medida. La disposición de los cartuchos de reactivo puede ser opcional.
- (3) Se puso en marcha el instrumento automático de medida.
- 15 (4) El instrumento automático de medida leyó un código de barras fijado en el cartucho de reactivo y reconoció la partida de análisis que se había seleccionado. A continuación, cinco cartuchos de reactivo se sometieron de modo concurrente al mismo procedimiento.
- (5) Se perforó el cierre de aluminio en la parte superior del cartucho de reactivo con un resalte de tipo varilla.
- 20 (6) Se aspiraron 70 μl de muestra desde un pocillo de dispensación de muestra (1) y la cantidad total de la misma se dispensó en el pocillo de dilución 1 (2). Posteriormente, repitiendo las operaciones de aspiración y dispensación en el pocillo de dilución 1 (2), se realizó un primer escalón del procedimiento de dilución.
- 25 (7) Se aspiraron 65 μl de la muestra desde el pocillo de dilución 1 (2) y la cantidad total de la misma se dispensó al pocillo de dilución 2 (3). Posteriormente, repitiendo las operaciones de aspiración y dispensación en el pocillo de dilución 2 (3), se realizó un segundo escalón del procedimiento de dilución.
- 30 (8) Se aspiraron 60 μl de muestra desde el pocillo de dilución 2 (3), se dispensaron a un pocillo que contenía partículas magnéticas (4), y se mezclaron con partículas magnéticas, y se siguió con reacción a 42°C durante 10 minutos.
- 35 (9) En el pocillo que contenía partículas magnéticas (4), se separaron las partículas magnéticas usando un imán y además se lavaron las partículas magnéticas en un pocillo de lavado 1 (5). A continuación, las partículas magnéticas se separaron de allí usando un imán permanente.
- (10) Se dispensaron las partículas magnéticas a un pocillo que contenía anticuerpo marcado (6), y se dejaron reaccionar adicionalmente a 42°C durante 10 minutos.
- 40 (11) En el pocillo que contenía anticuerpo marcado (6), se separaron las partículas magnéticas usando un imán y además se lavaron las partículas magnéticas en un pocillo de lavado 2 (7). A continuación, las partículas magnéticas se separaron de allí usando un imán permanente.
- 45 (12) Se dispensaron las partículas magnéticas a un pocillo fotométrico (8), se mezclaron con solución de AMPPD, y se sometieron a reacción enzimática a 42°C durante 5 minutos. A continuación, se midió la cantidad de luminiscencia desde el pocillo fotométrico anterior usando un tubo fotomultiplicador (PMT).
- Se repitieron las mediciones anteriormente mencionadas durante 12 días y se examinó la reproducibilidad día tras día para obtener los buenos resultados siguientes.

50

(Tabla pasa a página siguiente)

55

60

65

ES 2 275 674 T3

TABLA 2

		HBsAg	Anti-cuerpo de VHC	Anti-cuerpo de VIH	Anticuerpo de HTLV-1	Anticuerpo de TP
Suero negativo de control	Media	257	3.646	1.521	1.563	2.585
	Desviación típica	17	425	199	199	291
	CV (%)	6,5%	11,7%	13,1%	12,7%	11,3%
Suero positivo de control	Media	45.035	43.601	72.983	215.806	34.571
	Desviación típica	1.404	1.984	2.902	13.593	1.659
	CV (%)	3,1%	4,6%	4,0%	6,3%	4,8%

(Los valores numéricos indican la intensidad de la luminiscencia).

Ejemplo 2

Medición (B) de HBsAg, anticuerpo de VHC, anticuerpo de VIH, anticuerpo de HTLV-1 y anticuerpo de TP

Se realizaron mediciones usando un cartucho hecho de poliestireno que se muestra en la Fig. 2. Esto es, se llenaron las respectivas soluciones de dilución de muestras y los reactivos que participan en la reacción (partículas magnéticas, anticuerpo marcado, AMPPD) en un cartucho diferente (de aquí en adelante en algunos casos denominado "cartucho de reactivos") del cartucho de la presente invención (de aquí en adelante en algunos casos denominado "cartucho de reacción"). Las mediciones se realizaron de tal manera que los reactivos no se unieron físicamente y la dilución de las muestras se hizo en tres escalones. Como reactivos y soluciones, se usaron los que se habían preparado en el Ejemplo de preparación 1 anteriormente descrito.

(1) Se instalaron en un instrumento automático de medida un cartucho de reactivo para HBsAg, un cartucho para anticuerpo de VHC, un cartucho de reactivo para anticuerpo de VIH, un cartucho de reactivo para anticuerpo de HTLV-1, y un cartucho de reactivo para anticuerpo de TP. La disposición de los cartuchos de reactivos puede ser opcional. Los cartuchos de reactivo se llenaron con reactivos y soluciones, respectivamente, con antelación como se muestra en la Tabla 3 y se cerraron con hoja de aluminio estratificada.

(2) El cartucho de reacción se instaló en el instrumento. Aquí, el cartucho de reacción es un cartucho vacío sin que se llene en el mismo solución de dilución ni reactivo (sin hoja de aluminio de cierre) de modo que es común sin tener en cuenta qué partida para analizar esté concernida.

(3) Se dispensaron muestras (suero negativo de control y suero positivo de control) en el pocillo de dispensación de muestra (SD) de cada cartucho de reacción en correspondencia con una cadena en cada cartucho de reactivo en una cantidad de 115 μ l o más.

(4) Se puso en marcha el instrumento automático de medida.

(5) El instrumento automático de medida leyó un código de barras fijado al cartucho de reactivo y reconoció la partida de análisis que se había seleccionado. A continuación, cinco cartuchos de reactivo y cartuchos de reacción correspondientes a los cartuchos de reactivo se sometieron de modo concurrente al mismo procedimiento.

(6) Se perforó el cierre de aluminio en la parte superior del cartucho de reactivo con un resalte de tipo varilla.

(7) Se llenaron reactivos en los cartuchos de reacción desde cada cartucho de reactivo. Se determinó el orden de dispensación en consideración a la contaminación de puntas de dispensación.

(8) En primer lugar, se aspiraron 1000 μ l de solución de lavado desde un pocillo que contenía solución de lavado (WS) y se dispensaron porciones de 500 μ l en un pocillo de lavado 1 (W1) y un pocillo de lavado 2 (W2), respectivamente.

ES 2 275 674 T3

(9) Se aspiraron 200 μl de AMPPD desde un pocillo que contenía AMPPD (AMPPD) y se dispensó la cantidad total del mismo a un pocillo fotométrico (LM).

5 (10) Se aspiraron 190 μl de una solución de dilución de muestra desde el pocillo que contenía solución de dilución 1 (DS1) y la cantidad total de la misma se dispensó a un pocillo de dilución 1 (D1). Cuando se vació el pocillo que contenía la solución de dilución 1 (DS1), el pocillo de dilución 1 (D1) permaneció vacío después de esta operación.

10 (11) Se aspiraron 290 μl de una solución de dilución de muestra desde el pocillo que contenía solución de dilución 1 (DS1) y la cantidad total de la misma se dispensó a un pocillo de dilución de muestra 2 (D2). Cuando se vació el pocillo que contenía la solución de dilución 1 (DS1), el pocillo de dilución 2 (D2) permaneció vacío después de esta operación.

15 (12) Se aspiraron 285 μl de una solución de dilución de muestra desde el pocillo que contenía solución de dilución 1 (DS1) y la cantidad total de la misma se dispensó a un pocillo de dilución de muestra 3 (D3). Cuando se vació el pocillo que contenía la solución de dilución 1 (DS1), el pocillo de dilución 3 (D3) permaneció vacío después de esta operación.

20 (13) Se aspiraron 115 μl de la solución de dilución de muestra desde el pocillo que contenía solución de dilución 2 (DS2) y la cantidad total de la misma se dispensó al pocillo de dilución de muestra 1 (D1). Cuando se vació el pocillo que contenía la solución de dilución 2 (DS2), la cantidad de solución de dilución en el pocillo de dilución 1 (D1) permaneció sin cambio después de esta operación.

25 (14) Se aspiraron 250 μl de un anticuerpo marcado desde un pocillo que contenía anticuerpo marcado (LA) y la cantidad total del mismo se dispensó a un pocillo de reacción 2 (R2).

(15) Se aspiraron 250 μl de suspensión de partículas magnéticas desde un pocillo que contenía partículas magnéticas (MP) y la cantidad total de la misma se dispensó a un pocillo de reacción 1 (R1).

30 (16) Por medio de las operaciones anteriores, se llenaron todos los reactivos necesarios desde los cartuchos de reactivo a los cartuchos de reacción. A continuación, se procedió a la dilución de muestra, reacción y procedimientos fotométricos usando los cartuchos de reacción.

35 (17) Se aspiraron 115 μl de muestra desde un pocillo de dispensación de muestra (SD) y la cantidad total de la misma se dispensó al pocillo de dilución 1 (D1). Posteriormente, repitiendo las operaciones de aspiración y dispensación en el pocillo de dilución 1 (D1), se realizó un primer escalón del procedimiento de dilución.

40 (18) Se aspiraron 110 μl de la muestra desde el pocillo de dilución 1 (D1) y la cantidad total de la misma se dispensó al pocillo de dilución 2 (D2). Posteriormente, repitiendo las operaciones de aspiración y dispensación en el pocillo de dilución 2 (D2), se realizó un segundo escalón del procedimiento de dilución.

45 (19) Se aspiraron 105 μl de la muestra desde el pocillo que de dilución 2 (DS2) y la cantidad total de la misma se dispensó al pocillo de dilución 3 (D3). Posteriormente, repitiendo las operaciones de aspiración y dispensación en el pocillo de dilución 3 (D3), se realizó un tercer escalón del procedimiento de dilución. Por las operaciones anteriores, se obtuvo finalmente una dilución deseada como se muestra en la Tabla 4.

(20) Se aspiraron 100 μl de la muestra desde el pocillo que de dilución 3 (DS3) y la cantidad total de la misma se dispensó al pocillo de reacción 1 (R1), y se mezcló con partículas magnéticas, y se siguió con reacción a 37°C durante 10 minutos.

50 (21) En el pocillo de reacción 1 (R1), se separaron las partículas magnéticas usando un imán permanente y además se lavaron las partículas magnéticas en un pocillo de lavado 1 (W1). A continuación, las partículas magnéticas se separaron de allí usando un imán permanente.

55 (22) Se dispensaron las partículas magnéticas a un pocillo de reacción 2 (R2), se mezclaron con un anticuerpo marcado. Además, después del mezclado, se dejaron reaccionar a 37°C durante 10 minutos.

60 (23) En el pocillo de reacción 2 (R2), se separaron las partículas magnéticas usando un imán permanente y además se lavaron las partículas magnéticas en un pocillo de lavado 2 (W2). A continuación, las partículas magnéticas se separaron de allí usando un imán permanente.

(24) Se dispensaron las partículas magnéticas a un pocillo fotométrico (LM), se mezclaron con solución de AMPPD, y se sometieron a reacción enzimática a 37°C durante 5 minutos. A continuación, se midió la cantidad de luminiscencia desde el pocillo fotométrico anterior (LM) usando un tubo fotomultiplicador (PMT).

65

ES 2 275 674 T3

TABLA 3

	HBsAg	VHC, VIH, HTLV-1	TP
5 Pocillo que contiene solución de dilución 1	0 µl	800 µl	0 µl
10 Pocillo que contiene solución de dilución 2	0 µl	150 µl	150 µl
15 Pocillo que contiene solución de lavado	1100 µl	1100 µl	1100 µl
20 Pocillo que contiene partículas magnéticas	300 µl	300 µl	300 µl
25 Pocillo que contiene anticuerpo marcado	300 µl	300 µl	300 µl
Pocillo que contiene AMPPD	250 µl	250 µl	250 µl

TABLA 4

	Cantidad de llenado de solución de dilución			Cantidad de muestra (cantidad de introducción)
	HBsAg	VHC, VIH, HTLV-1	TP	
35 Pocillo de dilución 1	0 µl	305 µl	115 µl	115 µl
40 Pocillo de dilución 2	0 µl	290 µl	0 µl	110 µl
45 Pocillo de dilución 3	0 µl	285 µl	0 µl	105 µl
50 Aumento de la última dilución	1 vez	50 veces	2 veces	100 µl

TABLA 5

		HBsAg	Anti- cuerpo de VHC	Anti- cuerpo de VIH	Anticuer- po de HTLV-1	Anticuer- po de TP	
5							
10	Suero negati- vo de control	Medición	704	13.096	10.068	11.740	420
		por	560	12.328	10.084	11.408	412
		triplicado	496	12.484	10.296	12.108	404
15		Media	587	12.636	10.149	11.752	412
		CV (%)	18,2%	3,2%	1,3%	3,0%	1,9%
20	Suero positi- vo de control	Medición	272.316	372.308	870.088	2.668.518	82.272
		por	260.004	363.888	919.080	2.719.068	83.844
		triplicado	266.800	364.948	930.576	2.567.712	89.089
25		Media	266.373	367.048	906.581	2.651.764	85.071
		CV (%)	2,3%	1,2%	3,5%	2,9%	4,2%

Una ventaja de la presente invención es que proporciona: un cartucho para medición automática, para uso con un instrumento automático de medida, capaz de ser usado para medir una pluralidad de clases de partidas que se han de analizar -requiriendo cada una diferentes diluciones- en una muestra, sin aumentar sustancialmente el tiempo de medida incluso cuando esas partidas se miden de modo concurrente, en un instrumento que tiene solamente mecanismos simplificados lo más posible; y un procedimiento de medida que usa este cartucho.

Aplicabilidad industrial

Según la presente invención, se pueden realizar de modo concurrente mediciones de una pluralidad de clases de partidas que se han de analizar con diferentes diluciones en una muestra por un procedimiento de análisis uniforme. Esto conduce a la simplificación del instrumento automático de medida, reducción en coste, acortamiento del tiempo requerido para la medición y permite la medición fácil.

REIVINDICACIONES

5 1. Un cartucho para uso en la medida de un componente que se ha de medir contenido en una muestra, que comprende al menos un pocillo de dilución para diluir una cantidad predeterminada de una muestra hasta una dilución deseada; y un pocillo de reacción en el que se han de hacer reaccionar el componente que se ha de medir contenido en la muestra y una sustancia que reacciona específicamente con el mismo, en el que una solución de dilución está contenida en el pocillo de dilución en una cantidad suficiente para obtener la dilución deseada, dependiendo de la clase de componente que se ha de medir, cuando la cantidad predeterminada de muestra se dispensa en el pocillo de dilución por una operación uniforme.

10 2. Un cartucho según la reivindicación 1, en el que dos o más líneas de grupos de pocillos se disponen en paralelo, comprendiendo cada grupo de pocillos un pocillo de dilución y un pocillo de reacción.

15 3. Un cartucho según la reivindicación 1 ó 2, que comprende un pocillo que contiene reactivo para contener un reactivo necesario para la medición, un pocillo de dispensación de muestra para dispensar una muestra, un pocillo de lavado para realizar el lavado de un producto de reacción, y/o un pocillo de medida para realizar la medición del producto de reacción.

20 4. Un cartucho según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que se puede usar en medición en combinación con otro cartucho lleno con un reactivo y/o una solución que es/son necesario/s para la medición del componente que se ha de medir contenido en la muestra.

25 5. Un cartucho según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que todo el reactivo y/o la solución que es/son necesario/s para la medición del componente que se ha de medir contenido en la muestra están cerrados dentro del cartucho.

30 6. Un cartucho según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el componente que se ha de medir y la sustancia que reacciona específicamente con el mismo experimentan una reacción inmunológica cuando se hacen reaccionar entre sí.

35 7. Un cartucho según la reivindicación 6, en el que la reacción inmunológica es una reacción en la que el componente que se ha de medir en la muestra y la sustancia que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo reaccionan para formar un primer inmunocomplejo, siendo el primer inmunocomplejo específicamente reactivo inmunológicamente con un marcador que reacciona con el mismo para formar un segundo complejo inmunológico.

40 8. Un procedimiento de medida para un componente que se ha de medir contenido en una muestra, que comprende las etapas de:

proporcionar un cartucho como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5;

dispensar la cantidad predeterminada de la muestra en el pocillo de dilución, con lo que se diluye la muestra a la dilución deseada en el cartucho;

45 hacer reaccionar el componente que se ha de medir en la muestra diluida con una sustancia que reacciona específicamente con el mismo;

y medir una cantidad de un producto de reacción.

50 9. Un procedimiento de medida según la reivindicación 8, en el que una pluralidad de diferentes clases de componentes que se han de medir se miden de modo concurrente usando un cartucho que tiene dos o más líneas de grupos de pocillos, comprendiendo cada grupo de pocillos un pocillo de dilución y un pocillo de reacción, o usando una pluralidad de cartuchos.

55 10. Un procedimiento de medida según la reivindicación 8 ó 9, en el que la medición se realiza usando el cartucho según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y otro cartucho lleno con un reactivo y/o una solución necesarios para la medición del componente que se ha de medir contenido en la muestra.

60 11. Un procedimiento de medida según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que la reacción entre el componente que se ha de medir y la sustancia que reacciona específicamente con el mismo es una reacción inmunológica.

65 12. Un procedimiento de medida según la reivindicación 11, en el que la reacción inmunológica es una reacción en la que el componente que se ha de medir en la muestra y la sustancia que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo se dejan reaccionar para formar un primer inmunocomplejo, y el primer inmunocomplejo y un marcador que reacciona inmunológicamente específicamente con el mismo se dejan reaccionar para formar un segundo inmunocomplejo, y en el que se mide la cantidad del marcador en el segundo inmunocomplejo formado por la reacción.

ES 2 275 674 T3

13. Un instrumento de medida que comprende al menos una sección de alojamiento de cartucho que aloja el cartucho según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; una sección de dispensación para dispensar un reactivo y/o una muestra al cartucho alojado en la sección de alojamiento de cartucho por una operación uniforme, y una sección de medida para medir un producto de reacción en el cartucho alojado en la sección de alojamiento de cartucho.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

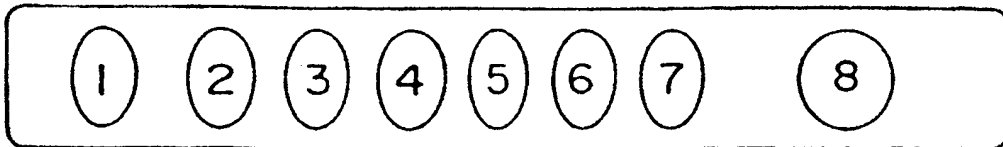
50

55

60

65

VISTA DESDE ARRIBA



VISTA EN SECCIÓN LATERAL

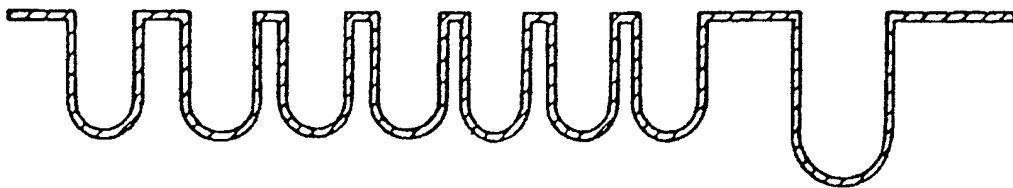


Fig. 1

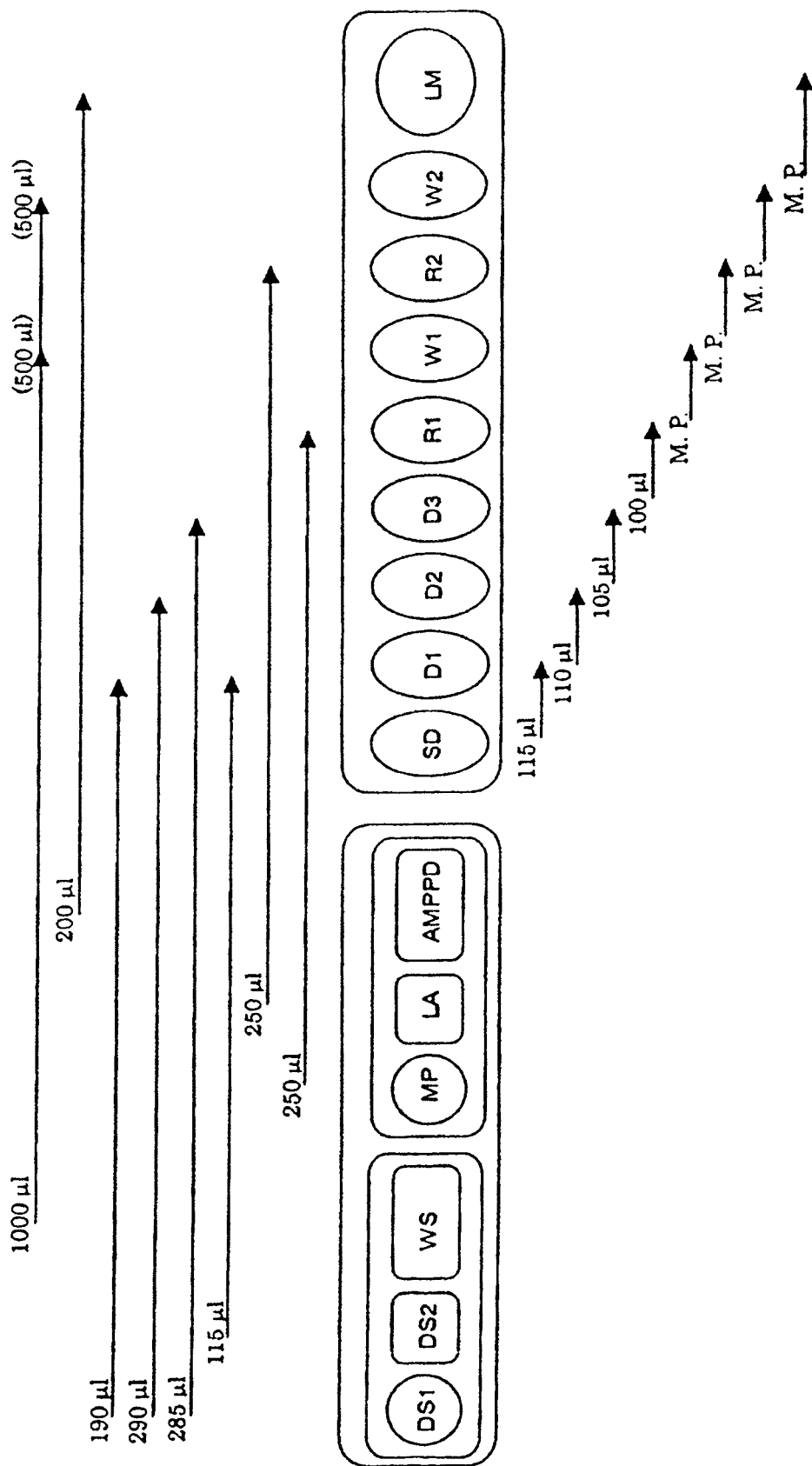


Fig. 2