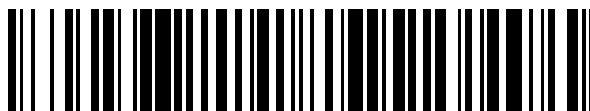


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 929 040**

51 Int. Cl.:

G01N 35/00 (2006.01)

G01N 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2012** **PCT/EP2012/004526**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.05.2013** **WO13060482**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2012** **E 12790789 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2022** **EP 2771697**

54 Título: **Dispositivo y procedimiento para detectar sustancias presentes en muestras biológicas o químicas**

30 Prioridad:

28.10.2011 DE 102011117320

26.10.2012 WO PCT/EP2012/004490

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

24.11.2022

73 Titular/es:

AENEAS GMBH & CO. KG (100.0%)

Mikroforum Ring 2

55234 Wendelsheim, DE

72 Inventor/es:

SCHIMON, HANS-PETER;

BLECKEN, JENS y

WULF, MARKUS

74 Agente/Representante:

BUENO FERRÁN, Ana María

ES 2 929 040 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

Dispositivo y procedimiento para detectar sustancias presentes en muestras biológicas o químicas

- 5 La presente invención se refiere a un dispositivo y a un procedimiento para detectar sustancias presentes en muestras biológicas o químicas, que en cada caso proporcionan una señal ópticamente detectable con la reacción con un reactivo, de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1 o 4.

Los estudios de muestras biológicas y químicas son cada vez más necesarios.

- 10 A este respecto, a menudo deben procesarse series de pruebas completas que deben realizarse naturalmente a ser posible de manera eficaz. A esto pertenecen, por ejemplo, los denominados ensayos ELISA ("ELISA" = "Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay"), que se han vuelto indispensables en el diagnóstico clínico y la investigación de ciencias vivas.

- 15 Por el documento DE 10 2008 022 835 B3 se conocen un procedimiento y un dispositivo como aparato de análisis para examinar muestras biológicas o químicas que experimentan en cada caso un cambio de color y/o una fluorescencia con la reacción con un reactivo, de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1 o 4, con lo que pueden realizarse también ensayos ELISA. A este respecto se usa un portamuestras (tal como por ejemplo una placa de microtitulación) que presenta una pluralidad de - en cualquier caso más de dos - recipientes para alojar las muestras. Los recipientes también se denominan entalladuras, cavidades o pozos, a veces también tarros. Al aparato de análisis está conectado posteriormente un dispositivo de evaluación, por ejemplo en forma de fotómetros conectados a un ordenador, que no pertenecen al aparato de análisis, con los que se pueden examinar o bien analizar o evaluar las muestras. Por cierto, por el cambio de color ha de entenderse también cualquier modificación del color.

- 25 El documento US 2008/207461 A1 describe un aparato de análisis en el que los espectros de una reacción se detectan con una cámara y luego se evalúan. El documento EP 2 133 668 A1 describe un aparato de análisis en el que la cantidad de muestra se determina por medio de una cámara.

- 30 Una y otra vez se dan casos en los que se dispone de muy poca cantidad de líquido de muestra. En estos casos puede ser difícil realizar todas las mediciones necesarias.

- Debido a que se deben usar diferentes filtros (de color), etc., para el fotómetro dependiendo del tipo de muestras a examinar o de las reacciones que han de esperarse, cambios de color y/o fluorescencias, la evaluación se retrasa debido a las mediciones separadas con los diferentes filtros, y el grado de automatización se ve perjudicado, por ejemplo, porque hay que cambiar el filtro.

- 35 Por lo tanto, la presente invención se basa en el objetivo de eliminar las desventajas mencionadas del estado de la técnica y permitir una evaluación que sea lo más respetuosa con los recursos posible, es decir, que requiera la menor cantidad de líquido de muestra posible, en donde debe conseguirse adicionalmente una automatización completa así como la mayor aceleración posible de los procesos que se producen.

- 45 Este objetivo se consigue con un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1 o bien un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, un producto de programa informático o bien programa informático de acuerdo con la reivindicación 10 así como un soporte de datos de acuerdo con la reivindicación 11 con un producto de programa informático almacenado en este. Perfeccionamientos ventajosos de la invención son objeto de las reivindicaciones dependientes.

- 50 Un dispositivo de acuerdo con la invención para detectar sustancias presentes en muestras biológicas o químicas, que proporcionan una señal ópticamente detectable en cada caso en la reacción con un reactivo, presenta un portamuestras, tal como por ejemplo una placa de microtitulación, en el que está previsto al menos un recipiente, tal como por ejemplo copa, pocillo, cavidad, entalladura, cazuela, etc., para poder alojar muestras en el mismo. La forma precisa de estos recipientes puede variar ampliamente y no es crítica para la presente invención. En la práctica, no solo se proporciona uno, sino un gran número de dichos recipientes, que normalmente presentan "huellas" estandarizadas o patrones de disposición, lo que, sin embargo, tampoco es esencial para la invención. Además, la disposición debe ser tal que en cada recipiente (al menos en el mencionado) estén presentes en cada caso al menos dos reactivos - por supuesto diferentes - o puedan agregarse allí. Además, el dispositivo de acuerdo con la invención para la evaluación (en lugar de fotómetros conectados posteriormente como en el documento DE 10 2008 022 835 B3) presenta una cámara, que puede ser, por ejemplo, una cámara CCD, y es preferentemente una cámara de matriz electrónica, tal como por ejemplo una cámara CMOS, y que está construida o ajustada en términos de distancia focal y nitidez o ajuste de distancia de tal manera que puede generar imágenes de un recipiente cargado con al menos dos reactivos en solo una (única) imagen. Debe enfatizarse aquí que la presente invención no se limita a que la cámara registre solamente una sola imagen, sino que, por supuesto, también puede registrar una pluralidad de imágenes para una evaluación posterior. Además, el dispositivo de acuerdo con la invención comprende un dispositivo de evaluación para evaluar las muestras a partir de la imagen registrada, con el que se pueden analizar los espectros de color contenidos en la imagen. Por ejemplo, se pueden agregar diferentes reactivos como antígenos/anticuerpos a un

recipiente y proporcionar una amplia variedad de señales tal como por ejemplo fluorescencia o cambios de color, que se pueden registrar con la cámara en una sola imagen u opcionalmente en varias imágenes y luego pueden evaluarse por medio de software adecuado. De esta manera, se pueden obtener al menos dos reacciones medibles que se desarrollan de manera simultánea a partir de una cantidad mínima de muestra - a lo que pertenecen, por ejemplo,

5 sangre, suero y líquido celular. Como resultado puede elevarse el rendimiento por cantidad de suero o puede reducirse significativamente la cantidad de suero necesaria para obtener un gran número de diferentes valores de medición o diagnóstico.

La otra gran ventaja de esta solución de acuerdo con la invención consiste en que solo se requiere una única etapa de registro de una imagen o solo una única imagen para adquirir los respectivos espectros o señales de varios reactivos, y que además debe realizarse solo una etapa de evaluación de la imagen relevante - con varios espectros. Se puede lograr un alto rendimiento de muestras y, por lo tanto, una alta velocidad de procesamiento mediante el registro simultáneo y posterior - posiblemente con almacenamiento intermedio de la imagen - evaluación (al menos casi) simultánea o conjunta de varios espectros o bien señales, especialmente señales ópticamente detectables. Dado que no se requieren cambios de filtro o similares, también se logra un alto grado de automatización. Además, mediante el uso de la cámara se pueden realizar y evaluar pruebas de reacción completamente diferentes, tal como por ejemplo el registro o bien análisis de fluorescencias así como una amplia variedad de reacciones de color, para los distintos reactivos en un recipiente de un portamuestras. Con el software apropiado, estas pruebas de reacción se pueden realizar en una única etapa (y en un único dispositivo).

Como se sabe en general, están previstos muchos, pero al menos más de dos, recipientes en el portamuestras. Preferiblemente, varios reactivos diferentes se pueden ubicar y evaluar juntos, no solo en un solo recipiente, sino también en varios o incluso en todos los recipientes.

Se prefiere además que la cámara pueda registrar no sólo una parte de las muestras del portamuestras, sino todas las muestras en una única imagen. Esto permite una mayor eficiencia y velocidad de procesamiento, así como un grado de automatización aún mejor.

Un procedimiento de acuerdo con la invención para detectar sustancias presentes en muestras biológicas o químicas, que en cada caso proporcionan una señal ópticamente detectable en la reacción con un reactivo - que preferentemente está presente como líquido -, comprende las siguientes etapas: En primer lugar, se colocan al menos dos reactivos (diferentes) en un único recipiente de un portamuestras y, opcionalmente, se inmovilizan, después de lo cual se añade la muestra al recipiente. A continuación, una cámara registra una imagen (preferentemente una cámara CMOS) de tal manera que se representa en la imagen la muestra a la que se han aplicado al menos dos reactivos o bien su recipiente. A continuación, la imagen se evalúa mediante el análisis de las señales resultantes de la adición de la muestra que se va a examinar, tal como por ejemplo los espectros de color en la imagen, lo que habitualmente se realiza mediante un software correspondiente por medio de un ordenador. Este procedimiento ofrece las mismas ventajas que ya se han descrito en relación con el dispositivo de acuerdo con la invención. Esto también se aplica en cada caso a las formas de realización preferentes de los procedimientos. La señal suele asignarse a un reactivo y, por tanto, a la presencia de una sustancia en la muestra.

Preferentemente, en cada caso al menos dos reactivos se agregan no solo a una muestra o bien recipiente, sino que se agregan al menos a una parte de los recipientes, después de lo cual los recipientes se muestran en la imagen y luego se evalúan en una etapa de procedimiento común, es decir, en muchos casos una única etapa de procedimiento.

Si se habla de "añadir reactivos a una muestra en un recipiente", también debe entenderse la adición de una muestra a un reactivo ubicado en un recipiente, ya que depende principalmente de que la muestra y el reactivo vengan juntos y no en orden.

Además, es ventajoso que todas las muestras en el portamuestras se muestren en una sola imagen y se evalúen en una etapas de procedimiento común.

La evaluación se lleva a cabo habitualmente y ventajosamente comparando el respectivo espectro con un valor predeterminado o espectro de referencia, preferentemente comparándolo con una pluralidad de valores predeterminados o bien espectros de referencia. El espectro o espectros de referencia se obtienen a partir de una o más muestras de referencia o en blanco registradas en uno o más recipientes.

En otra configuración de la invención, la intensidad de la señal o de las señales detectadas se compara con la intensidad de las señales generadas por medio de cantidades conocidas de la sustancia a determinar. Al asignar la intensidad de la señal, también es posible una determinación cuantitativa de la cantidad de la sustancia presente en la muestra.

En una realización conveniente de la invención, la presencia de sustancias en la muestra respectiva se determina por medio de procedimientos inmunológicos clásicos tal como por ejemplo Elisa. A este respecto, el modo de procedimiento de acuerdo con la invención también es adecuado para la determinación y detección simultáneas de diferentes clases de anticuerpos o inmunoglobulinas tal como IgA, IgM, IgG, etc. Para ello, tras la unión de las

respectivas inmunoglobulinas a un antígeno inmovilizado de los recipientes se mezcla con al menos un anticuerpo marcado, que se une específicamente a una de las subclases de inmunoglobulina. Si se usa una mezcla de anticuerpos marcados de forma diferente, que en cada caso son específicos para una subclase diferente, entonces la aparición de estas inmunoglobulinas puede detectarse una al lado de la otra por medio de un único registro y, por lo tanto, puede tener lugar una diferenciación de subclase de inmunoglobulina.

En otra forma de realización conveniente preferente de la invención, los tipos de células a determinar se caracterizan mediante correspondientes marcadores, en particular marcadores de color y de fluorescencia. Para ello, la muestra a examinar, en particular suero o plasma, se pone en contacto con varios anticuerpos provistos de dichos marcadores que se unen a determinados tipos de células, en particular linfocitos. El análisis por medio de la cámara ahora puede determinar cuáles de las células correspondientes están presentes. Igualmente puede realizarse un análisis semicuantitativo evaluando las intensidades de color o de fluorescencia, tal como por ejemplo también se implementa de manera similar en los análisis FACS (fluorescence activated cell sorting). Sin embargo, el modo de procedimiento de acuerdo con la invención no se limita a este respecto a tipos de células específicos, sino que, por supuesto, también se puede aplicar a fragmentos de células, orgánulos celulares y/u otros componentes celulares.

Por supuesto, son posibles las más variadas configuraciones de disposición de los reactivos en un recipiente. Por ejemplo, se propone de ese modo disponer los diferentes reactivos en forma de una matriz cuadrada o rectangular (o gran parte de ella) en el recipiente, siempre que el número de reactivos a colocar lo permita. Alternativamente, los reactivos se pueden disponer de tal manera que, para un número dado de reactivos, se maximice la distancia entre los reactivos individuales. También es posible colocar varios reactivos en un patrón ordenado, tal como por ejemplo círculos concéntricos, o colocarlos aleatoriamente en el fondo del recipiente donde permanecen fijos, y a continuación colocar una muestra, tal como por ejemplo sangre o suero, en el recipiente.

El dispositivo de acuerdo con la invención y/o el procedimiento de acuerdo con la invención puede/pueden usarse para controlar el volumen de la muestra o de las muestras antes de registrar una imagen de uno o más recipientes en el que/en los que está/están dispuesta/dispuestas una o más muestras. De acuerdo con la invención, la imagen se puede registrar porque, antes de que se registre la imagen, la cámara se gira o se pivota alejándose del recipiente o de los recipientes, por ejemplo esencialmente 90 grados, hacia una línea límite entre la muestra a disponer en el recipiente o los recipientes y un primer fluido que están dispuestos en una pipeta. Alternativamente, el registro de imágenes se puede realizar de acuerdo con la invención de modo que, antes del registro de la imagen, la cámara se gira o se pivota alejándose del recipiente o de los recipientes, por ejemplo esencialmente 90 grados, hacia una primera sección de una primera pipeta y una segunda sección de una segunda pipeta, que se representan juntas en una imagen registrada con la cámara.

Antes del registro de la imagen del o de los recipientes, la cámara se puede girar o pivotar por tanto para registrar otra imagen de tal manera que en la otra imagen estén representados de manera conjunta una línea límite entre la muestra y un primer fluido, que están dispuestos en una pipeta, o la primera sección de la primera pipeta y la segunda sección de la segunda pipeta.

En una forma de realización, la cámara para el registro de la imagen de la pipeta o de las pipetas está dirigida verticalmente hacia la(s) pipeta(s), y después de este registro de imágenes está dirigida horizontalmente hacia uno o varios recipientes dispuestos por debajo de la cámara. Los correspondientes dispositivos y procedimientos para el registro de imágenes y la evaluación de una imagen registrada desde una línea límite entre una muestra y un primer fluido, que están dispuestos en una pipeta, o desde una primera sección de una primera pipeta y una segunda sección de una segunda pipeta, que están representadas de manera conjunta en una imagen registrada con la cámara, en la que se puede utilizar el dispositivo de acuerdo con la invención y/o el procedimiento de acuerdo con la invención, se han descrito en las solicitudes de patente alemanas paralelas del solicitante de la presente solicitud con el expediente número DE 10 2011 117 310.6 con el expediente interno número AES 80204 y DE 10 2011 117 323.8 con el expediente interno número AES 80207.

Otras ventajas, características y particularidades de la invención resultan de la siguiente descripción de formas de realización preferidas, pero no limitativas, de la invención por medio de los dibujos esquemáticos y no a escala real. Muestran:

la figura 1 en representación muy esquemática una vista lateral de una forma de realización de un dispositivo de acuerdo con la invención, y

la figura 2 una vista en planta de un portamuestras del dispositivo de acuerdo con la invención.

La figura 1 muestra un dispositivo 10 de acuerdo con la invención para examinar muestras biológicas o químicas que experimentan o muestran o provocan un cambio de color y/o una fluorescencia en cada caso en la reacción con un reactivo. En un portamuestras 20 están previstos varios recipientes 22, en los que se colocan muestras 9 o reactivos tales como anticuerpos y/o antígenos o en los que se pueden colocar muestras 9 o reactivos. Para someter a prueba las muestras 9 por ejemplo para determinar la presencia de ciertos antígenos o anticuerpos, los reactivos correspondientes 8, que se muestran aquí esquemáticamente como gotas que caen, se agregan a las muestras 9 en

los recipientes 22 por medio de pipetas 28, a lo que las muestras 9 pueden reaccionar con correspondientes señales ópticas tal como reacciones de color, fluorescencia, etc. Están previstas lámparas 50 para una buena iluminación, dos de las cuales se muestran como ejemplos en esta forma de realización.

- 5 Para poder realizar una evaluación eficiente, rápida y automatizada de las reacciones de las muestras 9 con los reactivos 8, está prevista de acuerdo con la invención una cámara 30, para lo cual es particularmente adecuada una cámara CMOS, que está dispuesta de tal manera que registre todo el portamuestras 20 con todos los recipientes 22, o sea que elabore una imagen 32 de esto. Por supuesto, como alternativa, solo se puede registrar y evaluar una parte de los recipientes 22 si esto se desea. En particular, esto significa que la lente 31 de la cámara 30 presenta una distancia focal adecuada y permite un ajuste de distancia correcto.

La imagen 32 registrada por la cámara 30 se alimenta a un ordenador 40 que sirve como dispositivo de evaluación, que visualiza las señales 34 contenidas en la imagen 32 en un monitor 42. El ordenador puede controlarse mediante un teclado 44 y/o un ratón 46 de manera habitual. A continuación, los espectros de color se evalúan por medio de un software adecuado que puede ejecutarse en el ordenador 40 o bien un programa informático 90, que puede almacenarse en un CD 80 como soporte de datos, por ejemplo, comparándolos con los espectros de referencia correspondientes y/o valores de referencia. De acuerdo con la invención, a este respecto todos los espectros pueden evaluarse simultáneamente (o al menos casi simultáneamente). A cada muestra 9 o a cada recipiente 22 se le asigna a este respecto automáticamente el espectro 34 correspondiente - por ejemplo, mediante códigos de barras - y se indica, por ejemplo, qué anticuerpo o qué antígeno se detectó. La particularidad de ahorro de recursos de la presente invención consiste en introducir dos o más reactivos 8 en la(s) muestra(s) 9 en un recipiente 22 - o en varios o incluso en todos los recipientes 22 - y registrar las reacciones resultantes una al lado de la otra en el mismo tiempo y, dado el caso, almacenarlos electrónicamente. La evaluación de estas señales por medio de una base de datos puede tener lugar igualmente al mismo tiempo o también en cualquier momento posterior.

A modo de ejemplo, la figura 2 muestra una vista en planta de una sección de un portamuestras 20 con varios recipientes 22 que han sido cargados en cada caso con la misma muestra 9. En el recipiente que se muestra arriba a la izquierda en la figura 2, se han aplicado previamente un primer reactivo 8a y un segundo reactivo 8b en el fondo del recipiente 22, donde permanecen inmovilizados, mientras que en el recipiente 22 que se muestra a la derecha hay un tercer reactivo 8c, un cuarto reactivo 8d así como un quinto reactivo 8e. Los tres reactivos 8c-8e están dispuestos en una fila de manera ejemplar de acuerdo con la representación en la figura 2.

Alternativamente, la muestra 9 (o varias muestras diferentes) también se pueden introducir primero en el recipiente 22 y a continuación se pueden agregar los reactivos.

De manera análoga, cada recipiente individual o un número deseado de recipientes 22 se pueden ocupar varias veces, es decir, con diferentes reactivos 8. Después de crear una imagen 32 de estos recipientes 22 con las muestras 9 y los reactivos 8a-8e, la evaluación puede entonces realizarse conjuntamente de la manera ya descrita utilizando los espectros de color que se han producido.

Con ello, incluso las cantidades más pequeñas de líquido de muestra pueden examinarse para determinar muchas reacciones diferentes. Como resultado, ya se pueden obtener diferentes reacciones medibles a partir de una cantidad mínima de líquido de muestra - tal como por ejemplo sangre, suero y líquido celular - lo que aumenta el rendimiento por cantidad de muestra y, por lo tanto, la cantidad de muestra requerida puede reducirse significativamente para obtener un gran número de diferentes valores de medición o de diagnóstico. Está claro que este método tiene sus límites en la resolución óptica de la cámara 30 o su lente 31 y/o el procesamiento de imágenes asociado así como la difusión y posiblemente incluso la mezcla de los reactivos 8 en los recipientes individuales 22.

En cuanto a la evaluación, cabe mencionar que, para la cuantificación, se disponen referencias en algunos sitios, también denominados puntos - preferentemente en una fila o columna o una línea - con el fin de formar un patrón mediante una serie de diluciones.

Cabe señalar que las características de la invención descritas con referencia a las formas de realización ilustradas del dispositivo y del procedimiento, tal como por ejemplo la realización y configuración de los recipientes, la cámara, etc., la disposición de los diversos reactivos en un único recipiente, también pueden estar presentes en otras formas de realización excepto donde se indique lo contrario o cuando esto no sea posible por razones técnicas. Además, está claro que las ventajas y características que se han descrito con respecto al procedimiento de acuerdo con la invención también se aplican a las formas de realización correspondientes del dispositivo de acuerdo con la invención y viceversa.

Lista de referencias

- 8 reactivo
- 8a primer reactivo
- 8b segundo reactivo
- 8c tercer reactivo

8d	cuarto reactivo
8e	quinto reactivo
9	muestra
10	dispositivo
20	portamuestras
22	recipiente
28	pipeta
30	cámara
31	lente
32	imagen
34	señal/espectro de color
40	dispositivo de evaluación/ordenador
42	monitor
44	teclado
46	ratón
50	lámpara
80	soporte de datos/CD
90	programa informático

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo (10) para detectar sustancias presentes en muestras (9) biológicas o químicas que generan un espectro o señal (34) ópticamente detectable y distinguible para la respectiva sustancia en el caso de reacciones que se desarrollan de manera simultánea con al menos un reactivo (8), que presenta:

- un portamuestras (20) que contiene al menos un recipiente (22) para alojar muestras (9),

caracterizado porque

- al menos una parte de los recipientes (22) está diseñada para el alojamiento de en cada caso al menos dos reactivos (8),
- una cámara (30) que está configurada para controlar el volumen de las muestras (9) en una primera etapa y que está configurada para detectar en una etapa los espectros o bien señales obtenidos mediante las reacciones con la sustancia respectiva en al menos un recipiente (22) ocupado con al menos dos reactivos en una segunda etapa, y
- un dispositivo de evaluación (4) que evalúa las muestras (9) analizando los espectros o bien señales (34) al menos de un recipiente (22) ocupado con al menos dos reactivos,

en donde la cámara (30) para controlar el volumen de las muestras (9) se gira o se pivota alejándose del o de los recipientes esencialmente 90 grados hacia una línea límite entre la muestra que va a disponerse en el recipiente o en los recipientes y un primer fluido, que están dispuestos en una pipeta, o hacia una primera sección de una primera pipeta y una segunda sección de una segunda pipeta, que están representadas juntas en una imagen registrada con la cámara (30).

2. Dispositivo según la reivindicación 1, **caracterizado porque**

- el portamuestras (20) contiene al menos dos recipientes (22) para alojar muestras (9), y
- la cámara (30) está configurada para detectar en una etapa los espectros o bien señales generados mediante las reacciones al menos de un recipiente (22) ocupado con al menos dos reactivos.

3. Dispositivo según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado porque** la cámara (30) está configurada para detectar los espectros o bien señales generados mediante las reacciones de todas las muestras (9) en el portamuestras (20).

4. Procedimiento para detectar sustancias presentes en muestras (9) biológicas o químicas que, en el caso de reacciones que se desarrollan de manera simultánea con al menos un reactivo (8), producen una señal ópticamente detectable y distinguible para la respectiva sustancia, que comprende las siguientes etapas:

- introducir al menos dos reactivos (8) en un único recipiente (22) de un portamuestras (2), y dado el caso inmovilizar los reactivos (8),
- controlar el volumen de la muestra (9) por medio de una cámara (30),
- añadir la muestra (9) al recipiente (22),
- detectar en una etapa mediante la cámara (30) los espectros o bien señales obtenidos mediante las reacciones con la sustancia respectiva en al menos un recipiente (22) ocupado con al menos dos reactivos, y
- evaluar los espectros o bien señales (34) de al menos un recipiente (22) ocupado con al menos dos reactivos,

en donde la cámara (30) para controlar el volumen de las muestras (9) se gira o se pivota alejándose del o de los recipientes esencialmente 90 grados hacia una línea límite entre la muestra que va a disponerse en el recipiente o en los recipientes y un primer fluido, que están dispuestos en una pipeta, o hacia una primera sección de una primera pipeta y una segunda sección de una segunda pipeta, que están representadas juntas en una imagen registrada con la cámara (30).

5. Procedimiento según la reivindicación 4, **caracterizado porque** en cada caso se añaden al menos dos reactivos (8) a al menos dos recipientes (22), y los espectros o bien señales (34) de los al menos dos recipientes se registran o evalúan en una etapa de procedimiento común.

6. Procedimiento según la reivindicación 4 o 5, **caracterizado porque** todas las muestras (9) en el portamuestras (20) y sus espectros o bien señales generados mediante las reacciones se registran o evalúan en una etapa de procedimiento común.

7. Procedimiento según una de las reivindicaciones 4 a 6, **caracterizado porque** la evaluación se lleva a cabo comparando el respectivo espectro (34) con un valor predeterminado o bien espectro de referencia, preferentemente con varios valores predeterminados o bien espectros de referencia.

8. Procedimiento según una de las reivindicaciones 4 a 7, **caracterizado porque** diferentes subclases de un anticuerpo

se introducen en al menos uno de los recipientes (22) como reactivos (8a-e).

9. Procedimiento según la reivindicación 8, **caracterizado porque** los anticuerpos están dotados de marcadores de fluorescencia o color específicos y se realiza un análisis semicuantitativo evaluando las intensidades de color o de fluorescencia.
- 5

Fig. 1

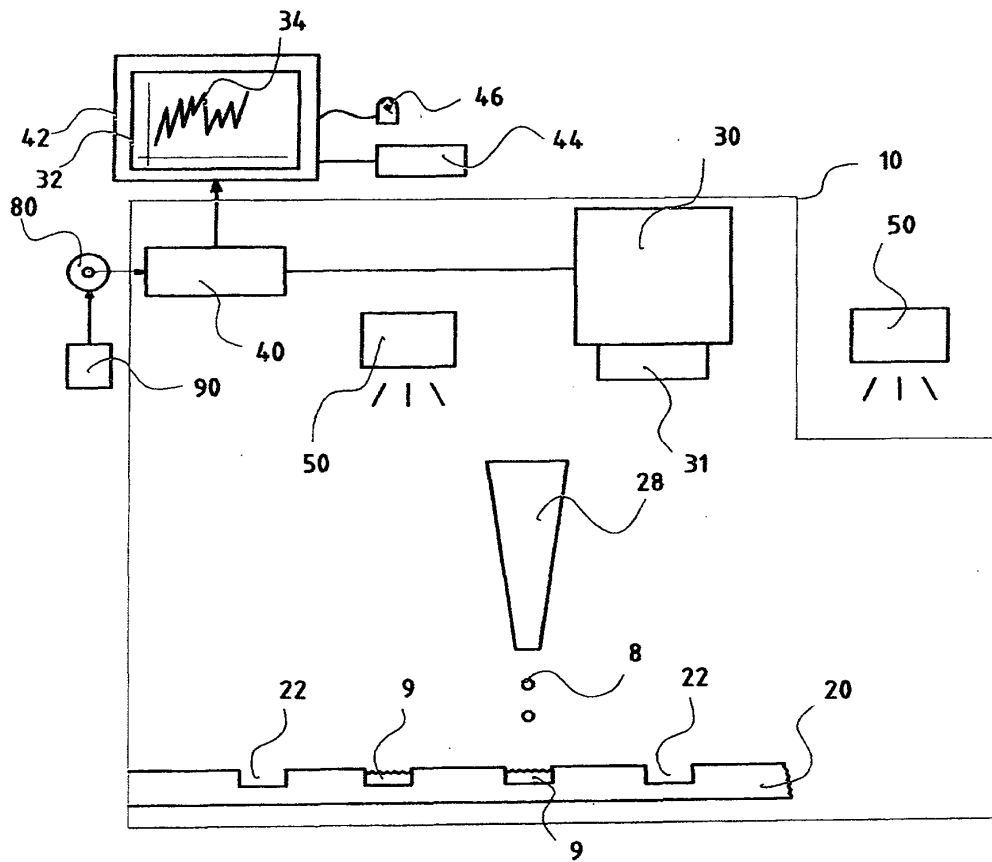


Fig. 2

