

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 368 611**

51 Int. Cl.:
G01N 15/05 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07787492 .3**
96 Fecha de presentación: **13.07.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2047232**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.04.2009**

54 Título: **APARATO INTEGRADO Y PROCEDIMIENTO PARA DETECTAR LOS ESTADOS INFLAMATORIOS PRESENTES EN UNA MUESTRA DE SANGRE ENTERA.**

30 Prioridad:
14.07.2006 IT UD20060177

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.11.2011

73 Titular/es:
**ALIFAX HOLDING S.P.A.
VIA PETRARCA 2/1
35020 POLVERARA (PD), IT**

72 Inventor/es:
**CIOTTI, Alfredo y
GALIANO, Paolo**

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 368 611 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Aparato integrado y procedimiento para detectar los estados inflamatorios presentes en una muestra de sangre entera

5

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención concierne a un aparato integrado para detectar estados inflamatorios presentes en una muestra de sangre entera y el procedimiento relativo. En particular, el aparato integrado según la presente invención es capaz de realizar una pluralidad de análisis de tipo físico, tales como la medición de la velocidad de sedimentación (ESR) de tipo inmunológico y de tipo de coagulación, utilizando una única muestra de sangre entera.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Es conocido que, a fin de asegurar una posible patología, se utilizan pruebas de diagnóstico y según los resultados de éstas, se empieza la terapia más apropiada.

15

En un laboratorio clínico, normalmente por lo menos están provistos tres protocolos analíticos previos diferentes, los cuales utilizan tres muestras diferentes de sangre, recogidas en tres recipientes diferentes, de modo que por lo menos se pueden llevar a cabo tres grupos diferentes de pruebas clínicas

20

Un primer grupo de pruebas comprende las pruebas físicas para medir la velocidad de sedimentación de la sangre (ESR), por ejemplo utilizando el procedimiento y el aparato descrito en la solicitud de patente europea EP - A - 1.098.188 (EP' 188) a nombre del presente solicitante y para efectuar mediciones del tamaño de la parte corpuscular de la sangre y también para determinar los valores de la anemia y el hematocrito o hemoglobina, como se describe en la solicitud de patente italiana UD 2006000111 a nombre del presente solicitante.

25

El documento WO 2005/022125 también revela un aparato para detectar la velocidad de sedimentación de una muestra de sangre.

30

La prueba para medir la velocidad de sedimentación es indicativa, no específicamente, de la presencia de un estado inflamatorio, puesto que es conocido que, en estados patológicos particulares, los grupúsculos en red tienden a agregarse y formar aglomerados, denominados rouleaux. Esto típicamente se muestra mediante la prueba clínica de velocidad de sedimentación la cual tiene la ventaja de ser fácil de llevar a cabo y es barata.

35

La agregación normalmente está impedida por la carga negativa de los glóbulos rojos, como resultado de lo cual los últimos se repelen entre sí. Sin embargo, es posible que la carga negativa pueda ser neutralizada cuando existen proteínas con una carga positiva presentes en el plasma, lo cual por lo tanto promueven la agregación.

40

Esto explica el incremento en la velocidad de sedimentación en situaciones fisiológicas o patológicas las cuales implican un incremento de fibrinógeno, globulinas beta, globulinas alfa y globulinas gamma.

En las patologías de los colágenos, las enfermedades reumáticas y la enfermedad de Hodgkin, existe una conexión entre los valores de la velocidad de sedimentación y el nivel de actividad de la enfermedad: un examen de la velocidad de sedimentación, en estos casos, es un instrumento útil para supervisar las condiciones clínicas de un paciente.

45

A partir de lo anterior está claro que la velocidad de sedimentación revela indirectamente un estado de flogosis.

50

También está claro que la naturaleza no específica de la prueba de la velocidad de sedimentación hace necesario utilizarla en el contexto de los datos clínicos y anamnésticos, los cuales conservan un papel principal.

Por lo tanto, cuando el valor de la velocidad de sedimentación excede de los valores normales, es una práctica consolidada llevar a cabo otras pruebas de diagnóstico, incluso aunque sean más caras, pero que sean más específicas.

55

Entre éstas, un segundo grupo de pruebas, de tipo inmunológico, esto es, que se basan en la reacción de anticuerpos antígenos sirve para determinar la concentración de proteína C reactiva (CRP), infecciones de estreptococos (ASO) y el factor reumático RF.

60

La proteína C reactiva CRP es una proteína, presente en el suero sanguíneo, la cual aumenta significativamente a continuación del daño a los tejidos, las infecciones materiales y virales, las patologías cardíacas y la neoplasia maligna.

65

Los últimos años han contemplado importantes desarrollos en la investigación de los marcadores inflamatorios los cuales pueden actuar como predictores del riesgo de casos cardiovasculares; la hipótesis de mayor crédito es que la

aterosclerosis es el resultado de un proceso inflamatorio, el cual se desarrolla en respuesta a un daño metabólico (diabetes, hipercolesterolemia), un daño físico (hipertensión) o un daño derivado del comportamiento (fumar).

5 Las indicaciones clínicas de la medición de estos marcadores consisten en la posibilidad de evaluar el riesgo individual de casos cardiovasculares. La estimación de los factores que tradicionalmente predisponen (edad avanzada, diabetes, fumar, hipertensión, hiperlipidemia y una angina anterior) define el riesgo en un nivel de población bastante aproximadamente, pero permite predecir únicamente el 50 - 60 % de la variación en el riesgo absoluto en el paciente individual.

10 Por lo tanto ha surgido la importancia de averiguar los valores de la proteína C reactiva como predictores del riesgo independiente.

15 Los procedimientos conocidos para determinar la velocidad de sedimentación utilizan el hecho de que, en una solución, un anticuerpo reconoce y se adhiere a un antígeno específico, que determina una reacción inmunológica que es detectada en particular mediante la observación del cambio en las propiedades ópticas de la solución.

20 Para explotar este efecto e investigarlo eficazmente mediante la medición del cambio en las propiedades ópticas, se tiene que evitar la formación de una suspensión o de un precipitado, siendo deseable, por el contrario, la formación de una agregación o una aglutinación.

25 En particular, en condiciones adecuadas una reacción inmunológica puede ocurrir entre anticuerpos específicos inmovilizados en un transportador adecuado, por ejemplo coloideo de oro o partículas de látex y los antígenos, el resultado de lo cual es una mezcla de agregación o aglutinación que se puede determinar en su cambio en absorbencia o bien otras propiedades ópticas.

30 La prueba normal para determinar la proteína C reactiva consiste en la medición del nivel de turbidez causado por la aglutinación debido a la mezcla de una cantidad determinada de suero sanguíneo o plasma con los látex que consisten en bolas, principalmente poliestireno, con un diámetro promedio de aproximadamente 0,120 micras, cubierto con un anticuerpo anti proteína C reactiva y disperso o diluido en líquidos particulares, denominados tampones.

35 La prueba de la proteína C reactiva utilizada en el estado de la técnica se basa en nefelometría y requiere tiempos promedio de aproximadamente 6 minutos para conseguir cinéticas significantes, puesto que la técnica de la nefelometría requiere reactivos de baja concentración.

Otros procedimientos se revelan, por ejemplo, en los documentos WO - A - 89/06801 y WO - A - 92/11537, que se basan en un coloideo de oro que forma complejos superagregados, que pueden reemplazar las partículas de látex utilizadas en los ensayos de inmunoaglutinación, detectables mediante un densitómetro o un reflectómetro.

40 Procedimientos adicionales utilizan la sangre entera, en lugar del suero sanguíneo o plasma y proveen una lisis inicial de los glóbulos rojos presentes y después una aglutinación debido al antígeno presente en el volumen del plasma, el cual encuentra el anticuerpo de la proteína C reactiva específico presente en el transportador sensibilizado. En este caso, el valor medido de la proteína C reactiva se corrige con el valor hematocrito de la muestra de sangre entera.

45 Un procedimiento conocido se describe, por ejemplo, en el documento "Rapid Immunometric Measurement of C-Reactive Protein in Whole Blood" ("Medición inmunométrica rápida de la proteína C reactiva en sangre entera"), de Petter Urdal, Stig M. Borch, Sverre Landaas, May B. Krutnes, Geir O. Gogstad, y Per Hjortdahl, publicado en Clinical Chemistry 38/4, 580-584 (1992).

50 En particular, este último está relacionado con los documentos anteriormente mencionados WO - A - 89/06801 y WO - A - 92/11537 y revela un procedimiento de ensayo inmunológico comercialmente disponible como un conjunto denominado "Nycocard CRP Whole Blood test", para determinar el contenido de proteína C reactiva (CRP) en una muestra de sangre entera que implica una inmovilización de un anticuerpo específico de la proteína C reactiva en un coloideo de oro ultra pequeño que actúa como un transportador adecuado, un tratamiento de lisis en la muestra de la sangre entera, una reacción inmunológica entre el antígeno y el anticuerpo inmovilizado y una investigación de la agregación o aglutinación resultante que deriva a partir del coloideo de oro que transporta los anticuerpos ligados a los antígenos, utilizando un reflectómetro.

60 A partir de la solicitud de patente europea EP - A - 0.822.412 (EP'412) también se conoce un procedimiento de ensayo inmunológico para detectar el contenido de la proteína C reactiva (CRP) en una muestra de sangre entera que, así como en el documento anteriormente mencionado "Rapid Immunometric Measurement of C-Reactive Protein in Whole Blood", implica una reacción de aglutinación en la muestra entre el antígeno y el anticuerpo inmovilizado en un látex de poliestireno y una medición óptica del cambio de la absorbencia de la mezcla de aglutinación, en donde la muestra de sangre entera es lisada forzosamente.

65

En el transcurso de las infecciones producidas por el *Streptococcus pyogenes*, se segregan numerosas sustancias, que incluyen dos: estreptolisina "O" y estreptolisina "S". La estreptolisina "O" es una toxina capaz de estimular la producción de anticuerpos específicos. Con el mismo principio de la prueba de la proteína C reactiva se consiguen reacciones inmunológicas para la determinación cuantitativa de los anticuerpos anti estreptolisina "O", pruebas de las infecciones de estreptococos (ASO).

El descubrimiento de estos anticuerpos ha sido muy útil a fin de diagnosticar infecciones de estreptococos y las consecuencias relativas asociadas con ellas, tales como fiebre reumática y glomerulonefritis aguda. Esta prueba se basa en la reacción entre el anticuerpo y las partículas de látex vinculadas a la estreptolisina "O". Los valores de las infecciones de estreptococos (ASO) se determinan cinemáticamente según una curva de calibración realizada utilizando una muestra con una concentración de infecciones de estreptococos conocida según una sucesión y concentraciones escalares, utilizando las técnicas ya conocidas en la prueba de la proteína C reactiva.

Adicionalmente, se realiza una prueba a fin de cuantificar el factor reumático RF, el cual es una macro globulina que aglutina partículas de látex sensibilizadas con globulinas gamma humanas y se pueden encontrar en la mayor parte de los pacientes afectados con una poliartritis aguda. La prueba de aglutinación de látex permite diferenciar esta enfermedad del reumatismo articular o de la fiebre reumática, en donde el factor reumatoide no está presente.

Un tercer grupo de pruebas concierne a la coagulación y, en particular, a la evaluación de la concentración de fibrinógeno presente en la sangre. La coagulación depende de factores que se encuentran en el plasma y las plaquetas, trombina, protrombina, trombolastina.

El nivel de fibrinógeno en la sangre puede variar en situaciones patológicas, por ejemplo aumentando en inflamaciones, traumatismos, inflamaciones de los tejidos conectivos, en el linfoma (más de 5 g/l), durante el embarazo, en algunos casos de nefrosis y en el caso de quemaduras. Por el contrario disminuye si se consume demasiado del mismo (hiperfibrinogenia), en casos de fallos del riñón y coagulación intravascular diseminada debida a diversos choques (choque séptico, cáncer de próstata).

Por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO - A - 90/08949 (WO'949) revela una pluralidad de procedimientos a base óptica para determinar la las propiedades de coagulación de una muestra de sangre.

También es conocido, como se informa en un estudio publicado en Clinical Chemistry, "Mistakes in a stat laboratory: types and frequency" (Equivocaciones en el laboratorio: tipos y frecuencia), que el flujo analítico de cada prueba clínica tiene tres etapas de trabajo principales, esto es, una etapa analítica previa, una etapa analítica y una etapa analítica posterior.

Según este estudio, el 68,2% de equivocaciones ocurren durante la etapa analítica previa, el 13,3% durante la etapa analítica y el restante 18,5% durante la etapa analítica posterior.

También está claro que el requisito primero y fundamental que el médico y el paciente solicitan de aquellos que realizan los análisis es la fiabilidad del resultado analítico.

A partir de la solicitud de patente internacional WO - A - 2005/022125 (WO'125) a nombre del presente solicitante también es conocido un aparato integrado que comprende, dispuesto en línea e integrado en una máquina individual, un dispositivo de tipo óptico para detectar la velocidad de sedimentación de la sangre (ESR) de una recogida y un conjunto de medición con una función de contador de células. El aparato comprende uno o más recipientes adecuados para ser perforados mediante una aguja de toma de muestras, a fin de recoger la muestra que se va a analizar, en una cantidad de entre 30 µl y 200 µl. La muestra se envía, por medio de una bomba y a través de un circuito, a los dispositivos analíticos.

Un aparato de este tipo se dirige al análisis de las propiedades físicas simples de la muestra de sangre y todos los componentes están desarrollados manteniendo este objetivo presente, por ejemplo, permite únicamente un control aproximado de la dosificación de la muestra y de la cantidad de la muestra que se envía a los dispositivos analíticos, tampoco hace un tratamiento previo sobre la muestra de sangre entera para preparar la misma para los análisis subsiguientes.

Un propósito de la presente invención es conseguir un aparato que permita llevar a cabo una pluralidad de pruebas de diagnóstico, que utilizan diferentes técnicas de reacción y una muestra individual de sangre entera la cual ha sido sometida a un tratamiento analítico previo individual, a fin de conseguir que sean estudiados los diversos fenómenos de reacción, tanto físicos como inmunológicos y de coagulación.

Otro propósito es perfeccionar un procedimiento que reduzca intrínsecamente las probabilidades de error en la etapa analítica previa, que sea económico, que permita realizar una pluralidad de pruebas de diagnóstico que utilicen diferentes técnicas de reacción y una muestra individual de sangre entera la cual ha sido sometida a un tratamiento analítico previo individual, a fin de conseguir que sean estudiados los diversos fenómenos de reacción, tanto físicos como inmunológicos y de coagulación.

El solicitante ha concebido, probado y realizado la presente invención para superar las limitaciones del estado de la técnica y obtener éstos y otros propósitos y ventajas.

5 RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se establece y está caracterizada en las reivindicaciones independientes relativas, mientras las reivindicaciones subordinadas describen otras características de la invención o variantes de la idea inventiva principal.

10 Según los propósitos anteriores, un aparato integrado para la detección de estados inflamatorios presentes en una muestra individual de sangre entera y derivados de un daño metabólico, un daño físico o un daño derivado del comportamiento según la presente invención comprende un conjunto para detectar la velocidad de sedimentación (ESR) de la muestra de sangre entera a fin de obtener una indicación preliminar de un posible estado inflamatorio
15 presente en dicha muestra. Si el valor de la velocidad de sedimentación detectado está por encima de lo normal, se considera como un signo de probables estados inflamatorios presentes en la muestra.

El aparato comprende también un primer conjunto de dispensación capaz de dispensar una cantidad previamente determinada de dicha muestra a por lo menos un conjunto de tratamiento previo adecuado para realizar un
20 tratamiento previo a fin de eliminar sustancialmente el contenido de glóbulos rojos en por lo menos una parte de dicha muestra.

El aparato adicionalmente comprende un segundo conjunto de dispensación adecuado para dispensar una cantidad previamente determinada de dicha parte de la muestra previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo a un
25 primer reactor de un grupo de reacción capaz de realizar por lo menos una reacción inmunológica o de coagulación entre dicha cantidad previamente determinada de la muestra y un látex dispensado en una cantidad previamente determinada al reactor mediante una tercera unidad de dispensación, dicho látex estando adecuadamente sensibilizado para causar dicha reacción inmunológica.

30 Además, el aparato caracteriza medios ópticos para medir la cinética de la reacción inmunológica o de coagulación la cual, de forma ventajosa según una curva de calibración previamente memorizada, permite medir la concentración del analítico contemplado y por lo tanto es indicativa de un estado inflamatorio en la muestra de sangre.

El primer conjunto de dispensación comprende primeros medios de micro válvula adecuados para dispensar dicha
35 cantidad previamente determinada de la muestra y primeros medios de detección fotométrica adecuados para detectar el volumen de dicha cantidad previamente determinada de la muestra.

El segundo conjunto de dispensación comprende segundos medios de micro válvula adecuados para dispensar
40 dicha cantidad previamente determinada de dicha parte de la muestra previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo y segundos medios de detección fotométrica adecuados para detectar el volumen dispensado de dicha cantidad previamente determinada de dicha muestra previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo.

Según una forma de realización adicional, el tercer conjunto de dispensación comprende terceros medios de micro
45 válvula adecuados para dispensar la cantidad previamente determinada de látex y terceros medios de detección fotométrica adecuados para detectar el volumen dispensado de dicha cantidad previamente determinada del látex.

Según una variante, el aparato comprende un conjunto de mandato y control por lo menos adecuado para coordinar
50 el funcionamiento del segundo conjunto de dispensación y del tercer conjunto de dispensación a fin de mantener el valor de la relación de la cantidad previamente determinada dispensada de la muestra previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo con respecto a la cantidad previamente determinada dispensada del látex en una gama determinada, correlacionada con la clase de reacción inmunológica o de coagulación.

En una forma de realización de la invención, el conjunto de tratamiento previo comprende un reactor de lisis capaz
55 de conseguir una reacción de lisis de una parte de dicha muestra a fin de obtener una muestra lisada. Según esta forma de realización, el conjunto para detectar la velocidad de sedimentación ESR es también capaz de medir el factor hematocrito equivalente de la muestra de sangre entera, para utilizar a continuación este valor como un factor de corrección para las concentraciones de los diversos analíticos determinados a través de las cinéticas específicas las cuales implican a la muestra lisada. De este modo, de forma ventajosa, se obtienen las concentraciones de los diversos analíticos que corresponden a las concentraciones normales realizadas en el plasma o el suero en el
60 estado de la técnica.

En una forma de realización alternativa de la invención, el conjunto de tratamiento previo comprende un dispositivo
65 de centrifugación capaz de centrifugar una parte de dicha muestra a fin de obtener una muestra centrifugada en la que la parte corpuscular de la sangre se ha separado de la líquida, en particular los glóbulos rojos se separan de la sangre entera.

Según una forma de realización de la invención, el grupo de reacción comprende uno o más reactores elegidos a partir de un grupo de reactores que comprende:

- 5 - un primer reactor, en el cual se realiza una primera reacción entre una primera parte de la muestra previamente tratada y un primer látex sensibilizado con un anticuerpo anti proteína C reactiva;
- un segundo reactor, en el cual se realiza una segunda reacción entre una segunda parte de la muestra previamente tratada y un segundo látex sensibilizado con una hemolisina, tal como estreptolisina "O";
- 10 - un tercer reactor, en el cual se realiza una tercera reacción entre una tercera parte de la muestra previamente tratada y un tercer látex sensibilizado para la reacción de antígeno anticuerpo debida a una macro globulina cuya presencia está conectada al factor reumatoide RF;
- 15 - un cuarto reactor, en el cual se realiza una cuarta reacción entre una cuarta parte de la muestra previamente tratada y un cuarto látex que comprende un anticuerpo anti fibrinógeno a fin de medir el contenido de fibrinógeno en la muestra de sangre entera.

Según una variante de la invención, el cuarto reactor también es capaz de realizar por lo menos una reacción de coagulación entre una parte de dicha muestra y un reactivo de coagulación. En este caso, el tercer conjunto de dispensación también es capaz de dispensar una cantidad previamente determinada del reactivo de coagulación al reactor de coagulación, el conjunto de mandato y control siendo también capaz de mantener la relación de dicha parte de dicha muestra o la cantidad previamente determinada dispensada de la muestra previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo con respecto a la cantidad previamente determinada dispensada del reactivo de coagulación en una gama determinada, correlacionada con la reacción de coagulación.

El aparato de forma ventajosa está gestionado completamente mediante el conjunto de mandato y control anteriormente mencionado, el cual adicionalmente manda y controla el conjunto de detección, el grupo de reacción y los medios ópticos, procesando los datos recibidos a fin de generar información, disponible para un operario, sobre el estado de inflamación de la muestra de sangre entera.

De forma ventajosa, el aparato según la invención funciona eficazmente como un punto analítico individual y permite llevar a cabo una pluralidad de pruebas de diagnóstico, las cuales utilizan diferentes técnicas de reacción y diferentes cuotas de sangre entera, que derivan a partir de una muestra individual de sangre entera la cual ha sido sometida a un tratamiento analítico previo individual, a fin de conseguir que sean estudiadas las diferentes reacciones, tanto físicas, como inmunológicas y de coagulación.

El aparato según la presente invención tiene la ventaja adicional de que se puede aplicar con éxito al análisis de reacciones inmunológicas o de coagulación, las cuales implican un control muy estricto de la cantidad de la parte de la muestra y de la cantidad del reactivo que están sometidos a las reacciones, estas últimas cantidades variando además según la clase de reacción.

Según la presente invención, un procedimiento para la detección de estados inflamatorios presentes en una muestra individual de sangre entera y derivados a partir de un daño metabólico, un daño físico o un daño derivado del comportamiento comprende las etapas como se define en la reivindicación 18.

Según una variante de la invención, el procedimiento también comprende la etapa de la medición del valor del factor hematocrito equivalente de dicha muestra; en este caso la etapa de tratamiento previo comprende una etapa de reacción de lisis de una parte de dicha muestra a fin de obtener una muestra lisada y adicionalmente comprenden la etapa de la corrección de la medición de la cinética de dicha reacción realizada con la parte de la muestra lisada, por medio de dicho factor hematocrito equivalente.

Según otra variante de la invención la etapa de tratamiento previo comprende una etapa de centrifugado a fin de obtener una muestra centrifugada en la que la parte corpuscular de la sangre se separa de la líquida, en particular los glóbulos rojos se separan de la sangre entera.

Según una forma de realización adicional, el procedimiento también comprende una etapa de la realización de por lo menos una reacción de coagulación entre una parte de dicha muestra o una parte de la muestra previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo y un reactivo de coagulación, utilizando un reactor de coagulación del grupo de reacción y midiendo por lo menos la cinética de la reacción de coagulación; en el que una cantidad previamente determinada del reactivo de coagulación es dispensada al reactor de coagulación utilizando el tercer conjunto de dispensación.

El procedimiento según la invención permite llevar a cabo una pluralidad de pruebas de diagnóstico, las cuales utilizan diferentes técnicas de reacción y diferentes cuotas de sangre entera, que derivan a partir de una muestra individual de sangre entera la cual ha sido sometida a un tratamiento analítico previo individual. El procedimiento por lo tanto es económico y fiable y reduce la posibilidad de errores debido a las diferentes etapas analíticas previas del

estado de la técnica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 5 Éstas y otras características de la presente invención se pondrán de manifiesto a partir de la siguiente descripción de una forma de realización preferencial, proporcionada a título de ejemplo no limitativo con referencia a los dibujos adjuntos en los cuales:
- 10 - la figura 1 es una representación esquemática global de un aparato según la presente invención;
 - la figura 2 es una representación esquemática detallada del aparato de la figura 1;
 - la figura 3 es una representación esquemática de una parte del aparato de la figura 1;
 - 15 - la figura 4 es un diagrama que compara los datos de una prueba de proteína C reactiva medida por medio del aparato de la figura 1, valores en el eje de ordenadas y, y medidos por medio del procedimiento de referencia conocido, valores en el eje de abscisas x;
 - la figura 5 es un diagrama que compara los datos de una prueba de infecciones de estreptococos medidos por medio del aparato de la figura 1, valores en el eje de ordenadas y, y medidos por medio del procedimiento de referencia conocido, valores en el eje de abscisas x;
 - 20 - la figura 6 es un diagrama que compara los datos de una prueba del factor reumático medidos por medio del aparato de la figura 1, valores en el eje de ordenadas y, y medidos por medio del procedimiento de referencia conocido, valores en el eje de abscisas x.
- 25

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE UNA FORMA DE REALIZACIÓN PREFERENCIAL

30 Según la presente invención, la figura 1 muestra un aparato integrado 10 para la detección de estados inflamatorios presentes en una muestra 11 de sangre entera.

El aparato 10 comprende un analizador 12 para analizar la velocidad de sedimentación ESR, por ejemplo como en el documento EP'188, el cual está provisto de un micro calculador que coordina todas las operaciones analíticas, esto es, homogenización de las muestras, recogida de la muestra, medición analítica de la muestra, descargar de la muestra.

35

El analizador 12 comprende un cargador 47 para cargar las muestras de sangre y un agitador 46 para agitar las muestras de sangre (figura 2).

40 Cada muestra de sangre 11 se identifica por medio de su propio código de barras, o una tarjeta de identificación por radiofrecuencia, la cual transporta información sobre la muestra y sobre el tratamiento que se va a realizar y que puede ser leída por cualquier lector de código de barras o lector de identificación por radiofrecuencia adecuado.

El analizador 12 comprende un dispositivo del tipo CPS 17 que consta de un micrómetro y un capilar en donde se realiza el flujo detenido, de modo que se mide las cinéticas de la densidad óptica de la sangre y la relativa intensidad de la luz transmitida con respecto al tiempo (silectograma).

45

El analizador 12 está mandado y controlado por un conjunto de mandato y control 50 el cual también calcula los parámetros del silectograma, la velocidad de sedimentación ESR y el factor de anemia el cual está correlacionado con el valor hematocrito equivalente, como se describe en la solicitud de patente UD 2006000111 a nombre de presente solicitante.

50

Los datos procesados por el conjunto de mandato y control 50 sobre el estado de inflamación de la muestra de sangre entera están disponibles para un operario, por ejemplo por medio de una impresora 52.

55

Además, está provisto un dispositivo herméticamente cerrado para tomar la muestra de sangre, equipado con una bomba 43 para desplazar la muestra de sangre, aguas abajo del micro fotómetro.

60 Cuando se completa la medición de la velocidad de sedimentación, parte de la muestra utilizada, aproximadamente 10 microlitros, es enviada por la bomba 43 y un primer conjunto de dispensación subsiguiente 56 a un conjunto de tratamiento previo 13, en donde ocurre un tratamiento previo a fin de eliminar sustancialmente la influencia de los glóbulos rojos, esto es para reducir o eliminar su efecto de máscara en los análisis subsiguientes.

El primer conjunto de dispensación 56 está provisto de una primera micro válvula de control primaria 44 a fin de regular el caudal a la salida de la bomba 43, la micro válvula 44 estando controlada eléctricamente por el conjunto de mandato y control 50 y permite dosificar volúmenes de aproximadamente 10 nanolitros por impulso.

65

Las características técnicas de la primera micro válvula 44 permiten distribuir 1000 gotas por segundo.

Variando el número de impulsos totales se varía y controla fácilmente el volumen total distribuido.

5 El conjunto de dispensación 56 está adicionalmente provisto de un sistema fotométrico 45 que controla ópticamente la salida de la primera micro válvula 44 que distribuye el volumen de sangre al conjunto de tratamiento previo 13. El sistema fotométrico 45 cuenta las gotas realmente distribuidas por la micro válvula 44, determinando de ese modo el volumen realmente dispensado. El lector óptico se sintoniza a 540 nm, lo cual corresponde al color promedio de la hemoglobina, contenida en los glóbulos rojos.

10 Según una forma de realización, el conjunto de tratamiento previo 13 es un reactor de lisis de tipo conocido, que utiliza un lisante químico muy conocido en la técnica.

15 La masa del reactor de lisis, establecido térmicamente a 37 °C, es lo suficientemente grande como para no estar sometida a variaciones apreciables en la temperatura (± 1 °C) debido a la adición de la muestra de sangre y el volumen del lisante químico, mantenidos a la temperatura medioambiental (25 °C).

20 El lisante químico también puede realizar la función de diluyente de modo que se calibre la concentración apropiada de la muestra de sangre a fin de conseguir la reacción inmunológica subsiguiente.

25 En el reactor de lisis una cantidad suficiente de material es distribuida de modo que se puedan realizar las diferentes reacciones inmunológicas de la misma muestra de sangre 11, esto es, la prueba de la proteína C reactiva, la prueba de las infecciones de estreptococos y la prueba del factor reumático.

La relación de dilución indicativa es aproximadamente 1/10, esto es, un volumen de muestra de sangre 11 y nueve volúmenes de lisante químico.

30 El lisante químico se recoge por medio de un dispensador equipado con una micro válvula 35 a partir de un depósito de lisante 26.

35 Las dos micro válvulas 35 y 44 trabajan en coordinación de modo que promueven el mezclado de los dos líquidos, con resultados de mezclado ventajosos cuando el tiempo de distribución total coincide, esto es, habiendo establecido el volumen que tienen que distribuir las dos micro válvulas, el cual incluso puede ser muy diferente entre las dos, el tiempo de distribución será el mismo para cada micro válvula y por lo tanto, su caudal variará.

De forma ventajosa, las dos micro válvulas 35 y 44 están orientadas de modo que distribuyen los líquidos a un punto individual común, denominado foco de distribución.

40 De forma ventajosa, la misma muestra lisada puede ser utilizada para realizar una prueba de coagulación, puesto que las sustancias utilizadas en las pruebas de coagulación no cambian.

45 Según una forma de realización alternativa, el conjunto de tratamiento previo 13 es un dispositivo de centrifugación capaz de centrifugar una parte de dicha muestra a fin de separar la parte corpuscular de la sangre de la líquida.

El aparato 10 comprende también a un analizador de reacciones inmunológicas 14, dispuesto aguas abajo del conjunto de tratamiento previo 13.

50 El analizador de reacciones inmunológicas 14 comprende una pluralidad de reactores 18, 19, 20, 25.

La salida del conjunto de tratamiento previo 13 está conectada, a través de un capilar, a un segundo conjunto de dispensación subsiguiente 57 que es capaz de dispensar selectivamente una parte de la muestra previamente tratada a uno o más de los reactores 18, 19, 20, 25.

55 Los reactivos correspondientes son dispensados al correspondiente de los reactores 18, 19, 20, 25 mediante un tercer conjunto de dispensación 60, provisto de un grupo de micro válvulas 61 y un grupo de detección del fotómetro 62 a fin de controlar y detectar el volumen dispensado de los reactivos.

60 En particular, el segundo conjunto de dispensación 57 está provisto de una micro válvula móvil 36, análoga a las micro válvulas 35 y 44, la función de la cual es distribuir los volúmenes necesarios al seleccionado de los reactores 18, 19, 20, 25 para realizar las reacciones inmunológicas en los reactores relativos.

65 Un sistema automatizado mueve la micro válvula 36 que transporta la muestra previamente tratada desde la posición de lavado inicial y de cebado hasta la de mezclado, en correspondencia con el reactor seleccionado 18, 19, 20, 25.

Una primera parte de la muestra tratada previamente de ese modo es inyectada desde la micro válvula 36 al interior de un primer reactor 18 para el análisis de la proteína C reactiva, la cantidad de la inyección estando controlada por un sistema fotométrico 58 análogo al fotómetro 45.

- 5 En el primer reactor 18 ocurre una primera reacción inmunológica entre la primera parte de la muestra tratada previamente y un primer látex 21, que comprende un anticuerpo anti proteína C reactiva.

10 El primer látex 21 está dispensado desde un primer depósito 27 por medio del tercer conjunto de dispensación 60 en el interior del primer reactor 18. En particular, el grupo de micro válvulas 61 del tercer conjunto de dispensación 60 está provisto de un primer dispensador de micro válvulas 31 que comprende dos micro válvulas, no representadas en los dibujos: la función de la primera es iniciar la reacción específica, añadiendo un volumen adecuado del primer látex sensibilizado 21 y la segunda, cuando la concentración de la muestra analizada excede de un umbral de concentración determinado, permite realizar una segunda reacción con una dilución mayor de la muestra, distribuyendo una cantidad determinada de tampón para evitar el efecto gancho, el cual es típico en este tipo de reacción.

15 Según una forma de realización ventajosa, el primer depósito 27 del primer látex 21 se mantiene en una celda termostática, por ejemplo células Peltier a aproximadamente 4 - 8 °C, de modo que no comprometa el rendimiento de la misma.

20 El primer látex 21 es recogido del primer depósito 27 mediante la parte terminal de un capilar 53. Este último y el primer dispensador 31 son termostatizados a 37 °C mediante un termostato 51, de modo que distribuye el volumen de reactivo necesario para la reacción a una temperatura normalizada de 37 °C ± 1 (figura 3).

- 25 La presión del primer látex 21 en el circuito está controlada por un sensor de presión 49.

Además, el grupo de detección del fotómetro 62 comprende un fotómetro 54 que controla ópticamente la dispensación del primer látex 21, equipado con un emisor 48 y un receptor 55 el cual, en esencia, cuenta las gotas realmente distribuidas, igual que el sistema fotométrico 45 descrito antes en este documento (figura 3).

30 La homogeneidad del reactivo de látex para la reacción inmunológica se asegura mediante un sistema del tipo del vórtice el cual entra en acción antes de iniciar el ciclo analítico.

35 Cuando ha empezado la reacción inmunológica específica, un fotómetro de múltiples canales 16 mide la cinética y el conjunto de mandato y control 50 determina los parámetros de la reacción según una curva de calibración memorizada.

40 Esta última se construye mediante la determinación de muestras con una concentración conocida y sirve para conectar la válvula de la cinética medida por el fotómetro 16 al rendimiento del látex o reactivo utilizado.

Los volúmenes y las relaciones de los volúmenes que las micro válvulas y los dispensadores pueden distribuir pueden ser variados según un algoritmo determinado presente en el conjunto de mandato y control 50.

45 El analizador de las reacciones inmunológicas 14 también comprende un segundo reactor 19, en el cual ocurre una segunda reacción entre una segunda parte de la muestra previamente tratada y un segundo látex 22 que comprende una hemolisina tal como la estreptolisina "O", de modo que se realiza la prueba de las infecciones de estreptococos (ASO).

50 Un tercer reactor 20 está también provisto, en donde tiene lugar una tercera reacción entre una tercera parte de la muestra previamente tratada y un tercer látex 23 que comprende un antígeno de globulina gamma humana IgG para la prueba de factor traumático RF.

55 El segundo reactor 19 y el tercer reactor 20 de las reacciones inmunológicas funcionan del mismo modo y están provistos con las soluciones como se ha descrito antes en este documento para el primer reactor 18, para controlar la dispensación, la micro válvula 36 y el fotómetro 58 del segundo conjunto de dispensación 57 y termostatización, y difieren en el tipo de látex 22 o 23 sensibilizado específicamente para la reacción inmunológica contemplada. Los látex 22 y 23 son dispensados mediante los correspondientes dispensadores de micro válvulas segundo y tercero 32, 33 del grupo de micro válvulas 61 del tercer conjunto de dispensación 60, conectados a los respectivos depósitos 28, 29. Los volúmenes dispensados son detectados utilizando fotómetros del grupo de detección del fotómetro 62, análogos al fotómetro 54. Las reacciones inmunológicas segunda y tercera son analizadas por el fotómetro 16 exactamente como ya se ha descrito para la primera reacción.

60 Según una variante, el analizador de las reacciones inmunológicas 14 también comprende un cuarto reactor 25, para medir el nivel de fibrinógeno en la sangre.

65 Según una forma de reacción, el cuarto reactor 25 es capaz de realizar una cuarta reacción inmunológica, la cinética

de la cual se mide mediante el fotómetro 16 del mismo modo, entre una cuarta parte de una muestra previamente tratada y un cuarto látex 24, que comprende un anticuerpo anti fibrinógeno, dispensado por un cuarto dispensador de micro válvulas 34 del grupo de micro válvulas 61 del tercer conjunto de dispensación 60, conectado a un depósito 30, en particular a una parte 30a del depósito 30 en donde está almacenado el cuarto látex 24.

5 Según otra forma de realización, el cuarto reactor 25 también es capaz de realizar una reacción de coagulación entre una parte de dicha muestra y un reactivo de coagulación 124.

10 En este caso, el cuarto látex 24 no se utiliza, sino que un volumen de la muestra primaria 11, no tratada previamente, se mezcla, alimentada por la primera micro válvula 44, representado mediante una flecha de líneas de trazos en las figuras 1 y 2, con un volumen adecuado de reactivo de coagulación 124 el cual causa el fenómeno de la coagulación, tal como trombina, protrombina, tromboplastina, adecuadamente dispensado desde el cuarto dispensador de micro válvulas 34 conectado al depósito 30, en particular a una parte 30b del depósito 30 en donde está almacenado el reactivo de coagulación 124.

15 El reactivo de coagulación 124 se mantiene termostatzado a 4 - 8 °C utilizando su células Peltier.

La muestra de sangre entera necesaria para la reacción de coagulación es distribuida en el interior del cuarto reactor 25, después de que haya sido medida la velocidad de sedimentación, utilizando la primera micro válvula 44.

20 En este caso también, la parte terminal del capilar, el cual recoge el reactivo del depósito, es termostatzada a 37 °C y el reactivo es homogeneizado por medio de un sistema del tipo de vórtice, el cual entra en acción antes de que se inicie el ciclo analítico.

25 El fotómetro 16 mide la cinética de coagulación y el conjunto de mandato y control 50 determina los parámetros de la reacción según una curva de calibración memorizada, construida del mismo modo anteriormente descrito.

30 Habiendo detectado el estado inicial de la reacción de coagulación, cuando los compuestos de la reacción, en cuanto al porcentaje, están todavía en el estado líquido, el fotómetro 16 capacita un ciclo de lavado y restablece las condiciones iniciales de cada reactor 18, 19, 20, 25.

El circuito de lavado comprende un depósito para el líquido de lavado 40 y una bomba para el líquido de lavado 41 la cual coopera con una válvula para controlar el lavado 42.

35 En la salida del fotómetro 16 hay un colector de control de la descarga 37, conectado a una bomba de descarga 38 la cual distribuye en la salida a un depósito de descarga 39.

40 Según otra variante, se consigue un sistema de múltiples células del tipo de micro placa, del tipo normalizado con 96 o 192 células, en las cuales se realizan las reacciones de lisis individuales y a continuación, en las demás células, las reacciones inmunológicas o de coagulación.

45 De forma ventajosa, el aparato 10 utiliza una muestra individual 11 de sangre entera, generalmente utilizada para medir el recuento sanguíneo o el recuento corpuscular, a fin de realizar, en el mismo instrumento, diferentes pruebas de diagnóstico para confirmar un estado inflamatorio.

50 De forma ventajosa, la determinación de las concentraciones de las sustancias consideradas es equivalente a la determinación realizada en el suero sanguíneo y el plasma, normalizando los valores medidos gracias a la utilización de los valores fotométricos correlacionados con el valor de factor de hematocrito equivalente, sin la necesidad de adoptar un sistema para medir el hematocrito, la cual es una medición típica del recuento corpuscular o de los sistemas centrífugos.

55 De hecho, en las figuras 4, 5 y 6 se puede ver la correlación entre los datos obtenidos utilizando procedimientos conocidos (norma del oro), respectivamente para la prueba de la proteína C reactiva en mg/l, la prueba de las infecciones de estreptococos y la prueba del factor reumático RF en UI/ml, representados en el eje x y los valores obtenidos con la presente invención para dichas pruebas, representados en el eje y.

Los factores de correlación de dichas pruebas son iguales, respectivamente, a 0,982, 0,9698 y 0,975, que muestran el rendimiento de la experimentación realizada.

60 De forma ventajosa, además, el tiempo de reacción se reduce utilizando reactivos concentrados.

65 De hecho, es posible utilizar reactivos concentrados explotando una célula de medición del fotómetro 16 con una trayectoria óptica corta, comprendida entre aproximadamente 0,4 y 0,9 mm, de forma ventajosa entre aproximadamente 0,6 y 0,8 mm, lo cual permite que el fotómetro trabaje en la gama de medición ideal, comprendida entre aproximadamente el 20 % y el 80 % de transmitancia, en donde el error relativo es inferior al 2 %.

La utilización de esta concentración mayor de reactivos permite realizar y medir la reacción inmunológica en un tiempo relativamente más corto, comprendido entre aproximadamente 0,5 y 6 minutos, de forma ventajosa entre aproximadamente 0,5 y 2 minutos.

- 5 De forma ventajosa, el tamaño consiguiente de la célula de medición y la trayectoria óptica permite conseguir reacciones con volúmenes globales comprendidos entre 2 - 3 microlitros, en oposición a los 700 - 800 microlitros o incluso más en el estado de la técnica.
- 10 Es evidente que se pueden realizar modificaciones o adiciones de piezas a los aparatos y al procedimiento para la detección de estados inflamatorios presentes en una muestra de sangre entera como ha sido descrito antes en este documento, sin por ello salirse del ámbito de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un aparato integrado para la detección de estados inflamatorios presentes en una muestra individual (11) de sangre entera y derivados a partir de un daño metabólico, un daño físico o un daño derivado del comportamiento, que comprende:
- un conjunto de detección (12) para detectar la velocidad de sedimentación (ESR) de dicha muestra (11), a fin de obtener una indicación preliminar de un posible estado inflamatorio presente en dicha muestra (11); y caracterizado por
 - un primer conjunto de dispensación (56) que comprende primeros medios de micro válvulas (44) adecuados para dispensar una cantidad previamente determinada de dicha muestra (11) por lo menos a un conjunto de tratamiento previo (13) adecuado para realizar un tratamiento previo a fin de eliminar sustancialmente el contenido de glóbulos rojos en por lo menos una parte de dicha muestra (11);
 - un segundo conjunto de dispensación (57) que comprende unos segundos medios de micro válvulas (36) adecuados para dispensar una cantidad previamente determinada de dicha parte de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) a un primer reactor (18, 19, 20, 25) de un grupo de reacción (14) capaz de realizar por lo menos una reacción inmunológica o de coagulación entre dicha cantidad previamente determinada de la muestra (11) y un látex (21, 22, 23, y 24) dispensado en una cantidad previamente determinada al reactor (18, 19, 20, 25) mediante un tercer conjunto de dispensación (60), dicho látex (21, 22, 23, y 24) estando adecuadamente sensibilizado para causar dicha reacción inmunológica o de coagulación;
 - medios ópticos (16) capaces de medir la cinética de dicha reacción inmunológica o de coagulación, indicativa de dichos estados inflamatorios presentes en dicha muestra de sangre.
2. Aparato según la reivindicación 1 caracterizado porque dicho primer conjunto de dispensación (56) comprende un primer medio de detección fotométrica (45) adecuado para detectar el volumen de dicha cantidad previamente determinada de la muestra (11).
3. Aparato según la reivindicación 1 o 2 caracterizado porque dicho segundo conjunto de dispensación (57) comprende un segundo medio de detección fotométrica (58) adecuado para detectar el volumen dispensado de dicha cantidad previamente determinada de dicha muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13).
4. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado por un tercer conjunto de dispensación (60) que comprende un tercer medio de micro válvulas (61) adecuado para dispensar la cantidad previamente determinada del látex (21, 22, 23, y 24) y un tercer medio de detección fotométrica (62) adecuado para detectar el volumen dispensado de dicha cantidad previamente determinada del látex (21, 22, 23, 24).
5. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque comprende un conjunto de mandato y control (50) por lo menos adecuado para coordinar el funcionamiento del segundo conjunto de dispensación (57) y de un tercer conjunto de dispensación (60) a fin de mantener el valor de la relación de la cantidad previamente determinada dispensada de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) con respecto a la cantidad previamente determinada dispensada del látex (21, 22, 23, y 24) en una gama determinada, correlacionada con la clase de reacción inmunológica o de coagulación.
6. Aparato según la reivindicación 1 caracterizado porque dicho conjunto de tratamiento previo (13) comprende un reactor de lisis capaz de conseguir una reacción de lisis de una parte de dicha muestra (11) a fin de obtener una muestra lisada.
7. Aparato según la reivindicación 1 caracterizado porque dicho conjunto de tratamiento previo (13) comprende un dispositivo de centrifugación capaz de centrifugar una parte de dicha muestra (11) a fin de obtener una muestra centrifugada en la que los glóbulos rojos son separados de la sangre entera.
8. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque dicho conjunto de detección (12) es capaz también de medir el factor hematocrito equivalente de dicha muestra (11).
9. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque un reactor de coagulación (25) del grupo de reacción (14) es capaz también de realizar por lo menos una reacción de coagulación entre una parte de dicha muestra (11) y un reactivo de coagulación (124).
10. Aparato según las reivindicaciones 5 y 9 caracterizado porque el tercer conjunto de dispensación (60) es capaz también de dispensar una cantidad previamente determinada del reactivo de coagulación (124) al reactor de coagulación (25), el conjunto de mandato y control (50) siendo capaz también de mantener la relación de dicha parte de dicha muestra (11) o la cantidad previamente determinada dispensada de la muestra (11) previamente tratada en

el conjunto de tratamiento previo (13) con respecto a la cantidad previamente determinada dispensada del reactivo de coagulación (124) en una gama determinada, correlacionada con la reacción de coagulación.

- 5 11. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque dicho grupo de reacción (14) comprende un primer reactor (18), en el cual puede ocurrir una primera reacción entre una primera parte de dicha cantidad previamente determinada de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) y un primer látex (21) que comprende un anticuerpo anti proteína C reactiva.
- 10 12. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque dicho grupo de reacción (14) comprende un segundo reactor (19), en el cual puede ocurrir una segunda reacción entre una segunda parte de dicha cantidad previamente determinada de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) y un segundo látex (22) que comprende estreptolisina "O".
- 15 13. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque dicho grupo de reacción (14) comprende un tercer reactor (20), en el cual puede ocurrir una tercera reacción entre una tercera parte de dicha cantidad previamente determinada de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) y un tercer látex (23) sensibilizado para detectar el factor reumático.
- 20 14. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque dicho grupo de reacción (14) comprende un cuarto reactor (25), en el cual puede ocurrir una cuarta reacción entre una cuarta parte de dicha cantidad previamente determinada de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) y un cuarto látex (24) que comprende un anticuerpo anti fibrinógeno para medir el contenido de fibrinógeno en dicha muestra (11).
- 25 15. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque dicho grupo de reacción (14) comprende un cuarto reactor (25), en el cual puede ocurrir una reacción entre una parte de dicha muestra (11) o una parte de dicha cantidad previamente determinada de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) y dicho reactivo de coagulación (124).
- 30 16. Aparato según la reivindicación 5 caracterizado porque dicho conjunto de mandato y control (50) también es capaz de mandar y controlar dicho conjunto de detección (12) y dicho grupo de reacción (14).
- 35 17. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque los medios ópticos comprenden un fotómetro (16) provisto de una célula de medición con una trayectoria óptica comprendida entre aproximadamente 0,4 mm y 0,9 mm.
- 40 18. Procedimiento para la detección de estados inflamatorios presentes en una muestra individual (11) de sangre entera y derivados a partir de un daño metabólico, un daño físico o un daño derivado del comportamiento, caracterizado porque comprende las etapas de:
- 45 - medición del valor de la velocidad de sedimentación (ESR) de dicha muestra (11), a fin de obtener una indicación preliminar de un posible estado inflamatorio presente en dicha muestra (11);
- 50 - sometimiento a un tratamiento previo, en un conjunto de tratamiento previo (13), de una parte de dicha muestra (11) a fin de eliminar sustancialmente el contenido de glóbulos rojos, en el que una cantidad previamente determinada de dicha muestra es dispensada al conjunto de tratamiento previo (13) utilizando un primer conjunto de dispensación (56) que comprende un primer medio de micro válvulas (44) adecuado para dispensar dicha cantidad previamente determinada de dicha muestra (11) al conjunto de tratamiento previo (13);
- 55 - realización de por lo menos una reacción inmunológica o de coagulación entre una cantidad previamente determinada de dicha parte de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) y un látex (21, 22, 23, y 24), mediante la utilización de un primer reactor (18, 19, 20, 25) de un grupo de reacción (14); en el que la cantidad previamente determinada de la muestra previamente tratada es dispensada al conjunto de reacción (14) utilizando un segundo conjunto de dispensación (57) que comprende un segundo medio de micro válvulas (36) capaz de dispensar dicha cantidad previamente determinada de dicha parte de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) al primer reactor (18, 19, 20, 25) y en el que el látex (21, 22, 23, y 24) es dispensado utilizando un tercer conjunto de dispensación (60);
- 60 - medición de por lo menos la cinética de dicha reacción, indicativa de dichos estados inflamatorios presentes en dicha muestra (11).
- 65 19. Procedimiento según la reivindicación 18 caracterizado porque también comprende la etapa de la medición del valor del factor hematocrito equivalente de dicha muestra (11), porque la etapa de tratamiento previo comprende una etapa de reacción de lisis de una parte de dicha muestra (11) a fin de obtener una muestra lisada y porque adicionalmente comprende la etapa de la corrección de la medición de la cinética de dicha reacción realizada con la parte de la muestra lisada, por medio de dicho factor hematocrito equivalente.

20. Procedimiento según la reivindicación 18 caracterizado porque la etapa del tratamiento previo comprende una etapa de centrifugado a fin de obtener una muestra centrifugada en la que los glóbulos rojos son separados de la sangre entera.

5 21. Procedimiento según la reivindicación 18 caracterizado porque también comprende una etapa de la realización de por lo menos una reacción de coagulación entre una parte de dicha muestra (11) o una parte de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) y un reactivo de coagulación (124),
10 utilizando un reactor de coagulación (25) del grupo de reacción (14); en el que una cantidad previamente determinada del reactivo de coagulación (124) es dispensada utilizando el tercer conjunto de dispensación.

22. Procedimiento según la reivindicación 18 caracterizado porque está provisto un conjunto de mandato y control (50) a fin de mantener la relación de la cantidad previamente determinada dispensada de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) con relación al volumen dispensado del látex (21, 22,
15 23, y 24) en una gama determinada, correlacionada con la clase de reacción inmunológica o de coagulación.

23. Procedimiento según las reivindicaciones 21 y 22 caracterizado porque el conjunto de mandato y control (50) también es capaz de mantener la relación de dicha parte de dicha muestra (11) o dicha parte de la muestra (11) previamente tratada en el conjunto de tratamiento previo (13) con relación a la cantidad previamente determinada
20 dispensada del reactivo de coagulación (124) en una gama determinada, correlacionada con la reacción de coagulación.

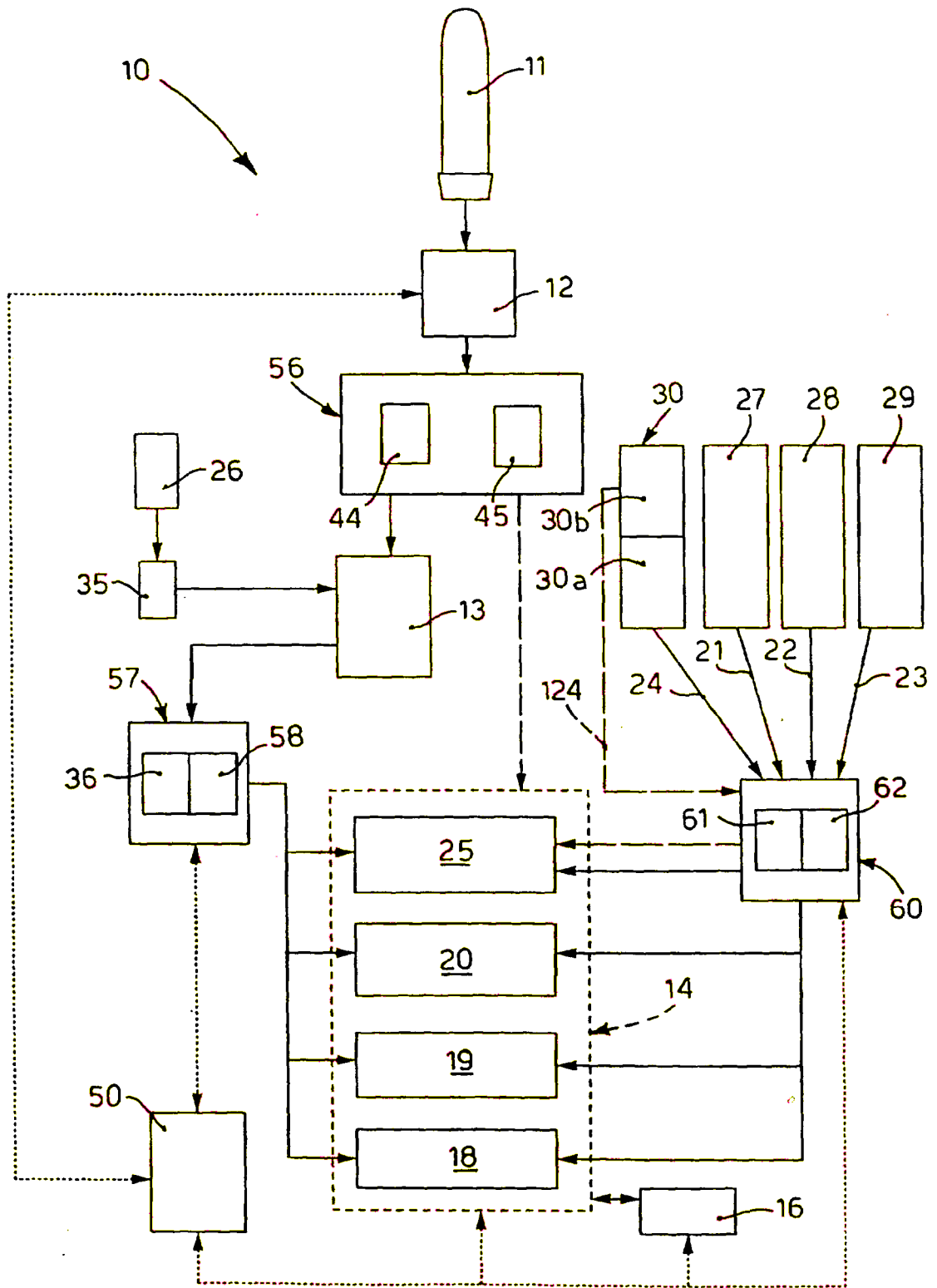


fig.1

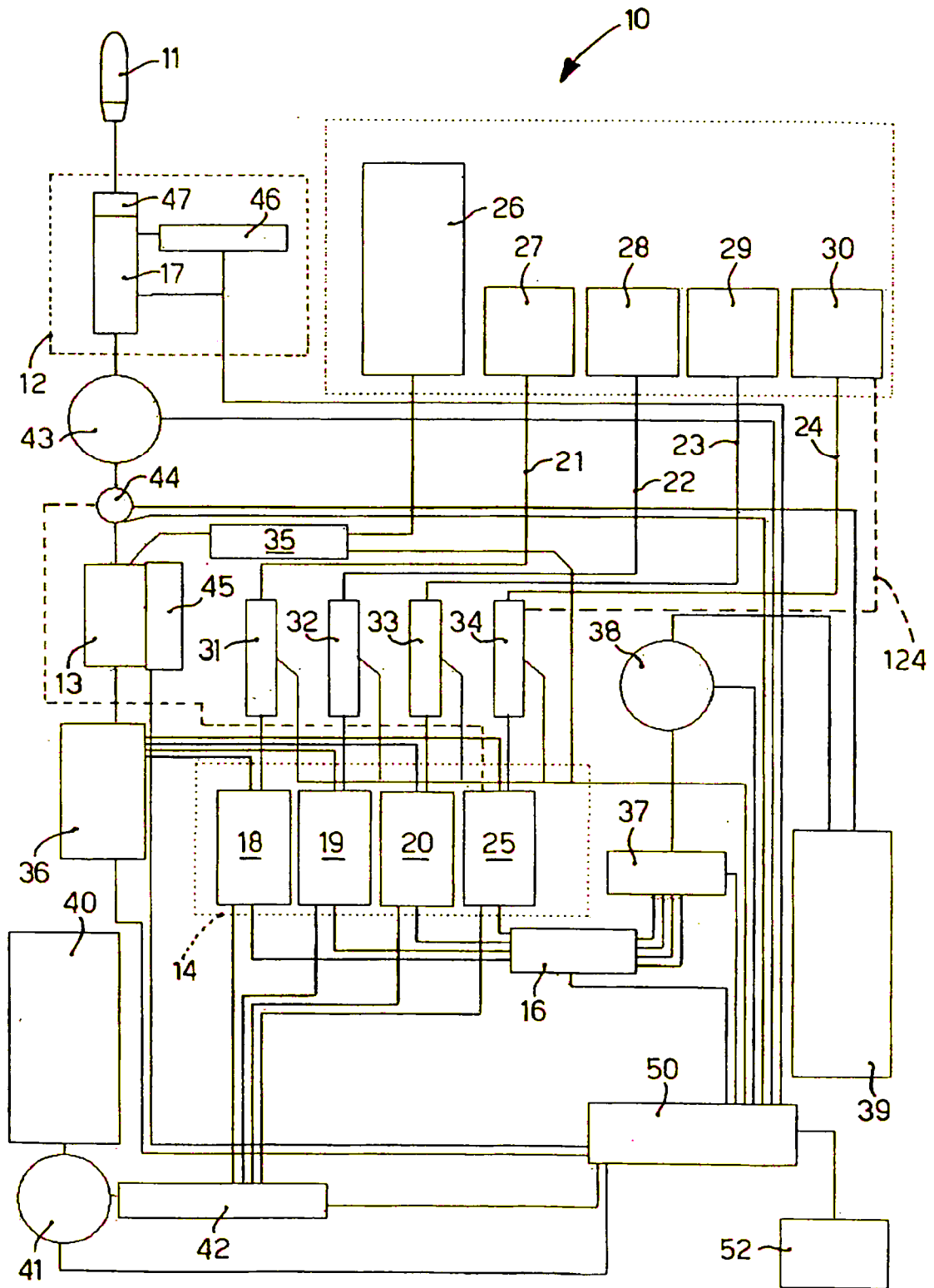


fig. 2

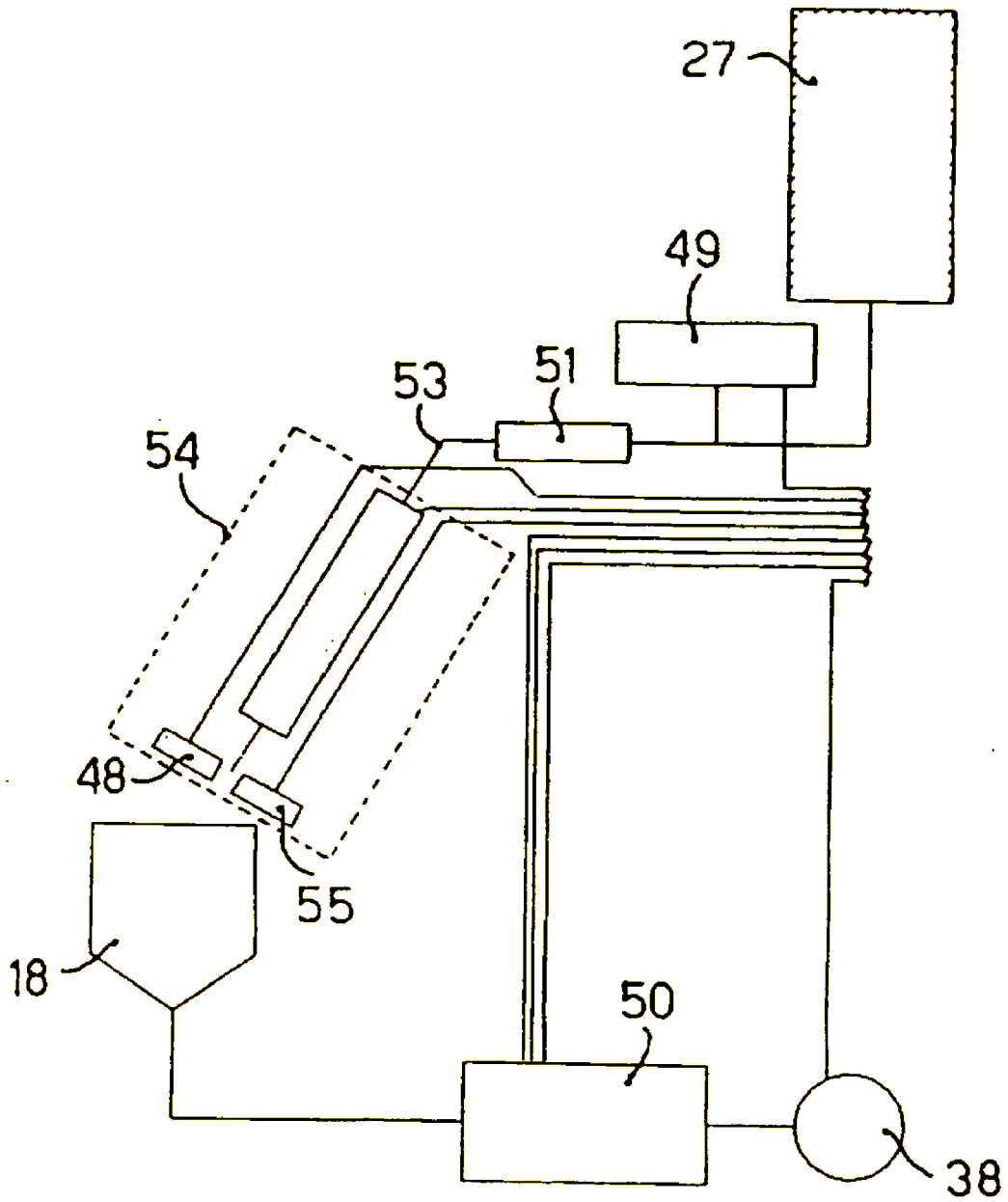


fig. 3

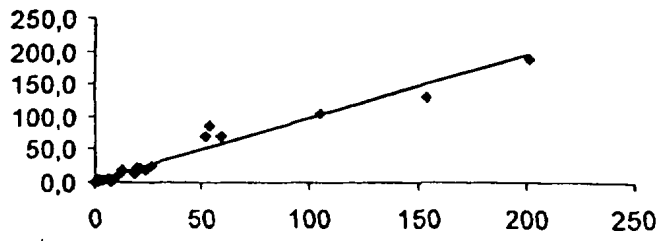


fig. 4

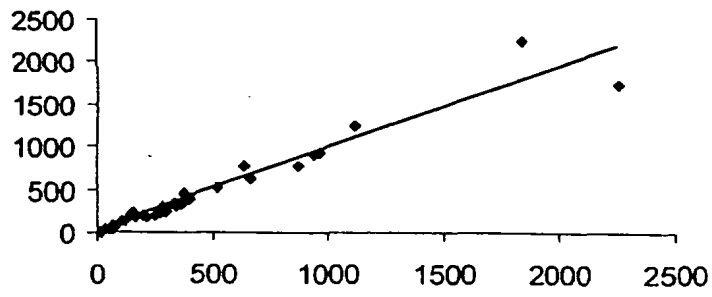


fig. 5

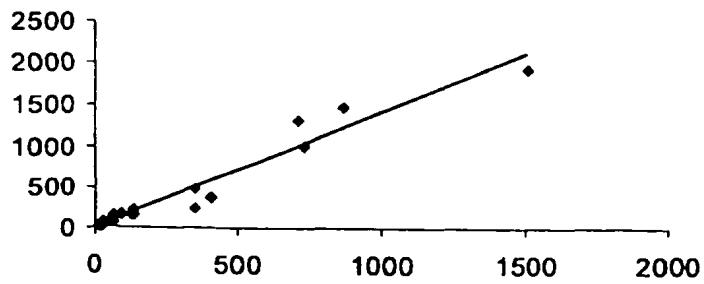


fig. 6