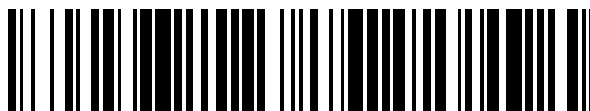


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 075**

51 Int. Cl.:  
**G01N 21/76** (2006.01)  
**G01N 21/66** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06017810 .0**  
96 Fecha de presentación: **25.08.2006**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1892524**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.02.2008**

54 Título: **CÉLULA PARA LLEVAR A CABO MEDICIONES DE ELECTROQUIMIOLUMINISCENCIA.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**24.02.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**24.02.2012**

73 Titular/es:  
**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG**  
**GRENZACHERSTRASSE, 124**  
**4070 BASEL, CH y**  
**IGEN LS LLC**

72 Inventor/es:  
**Kühnl, Michael;**  
**Buschek, Herbert;**  
**Krämer, Reinhold y**  
**Ickler, Petra**

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

**ES 2 375 075 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**

Célula para llevar a cabo mediciones de electroquimioluminiscencia

5 La presente invención se refiere a una célula para llevar a cabo mediciones de electroquimioluminiscencia para analizar muestras, que comprende un cuerpo de la célula de medición, con una cavidad para la célula de medición en forma de un canal alargado, un canal de entrada de fluido que se extiende transversalmente en dirección longitudinal de la cavidad de la célula de medición hacia esta última para la introducción de fluido dentro de la cavidad de la célula de medición, y un canal de salida del fluido para descargar fluido desde la cavidad de la célula de medición, en los extremos axiales de dicha cavidad de la célula de medición, como mínimo, un electrodo de trabajo y un contraelectrodo sobre o dentro de dicha cavidad de la célula de medición y un elemento de visionado óptico en dicho cuerpo de la célula de medición para observar señales de electroquimioluminiscencia en la cavidad de la célula de medición.

15 Las células de medición del tipo mencionado y métodos para analizar muestras por medio de pruebas de electroquimioluminiscencia, en particular, pruebas de inmunoensayo utilizando dichas células de medición, son conocidas, por ejemplo, por los documentos DE 43 42 942 A1, DE 198 03 528 A1, WO89/10551 A1 y WO90/11511, de manera que para la comprensión de la tecnología básica referente a la materia de la presente invención se hace referencia a dichas publicaciones.

20 En los documentos JP 09189662 A, JP 10332593 A y WO89/10552 A se dan a conocer ejemplos adicionales de células de medición de la técnica anterior, en las que las realizaciones de la misma tienen una cavidad para la célula de medición de tipo alargado con un canal de entrada para el fluido y un canal de salida del fluido conectado a aquél en sus extremos axiales y que se extiende de forma alineada con la cavidad de la célula de medición en una dirección longitudinal común para formar transiciones suaves entre la entrada de fluido y los canales de salida de fluido y la cavidad de la célula de medición.

30 Cuando se efectúa el análisis de una muestra de líquido por medio de pruebas de electroquimioluminiscencia, usualmente se tiene que determinar la concentración de una sustancia (analito) contenida en los líquidos de muestra. En el campo médico, son de gran importancia, particularmente, los análisis de fluidos corporales, tales como sangre, orina, saliva, etc., a efectos de los analitos contenidos en los mismos, por ejemplo, anticuerpos, antígenos, hormonas, etc. La presente invención se refiere a una célula de medición mejorada, particularmente adaptada para analizar dichas muestras por medio de pruebas de reacción de unión de electroquimioluminiscencia.

35 Un proceso típico de medición, en dichas pruebas comprende el intercambio múltiple de líquidos y/o mezclas en la célula de medición. Por lo tanto, durante una medición típica, se introduce una primera mezcla en la célula de medición limpia a través del canal de entrada de fluido, hacia dentro de la cavidad de la célula de medición. La primera mezcla es un incubado de la muestra, reactivos y partículas magnéticas. En las pruebas que se toman en consideración, las moléculas complejas, que están marcadas con un marcador electroquimioluminiscente, y que son una característica para el análisis, son fijadas a estas partículas magnéticas. Esta fijación es efectuada por un par asociados específicos de unión bioquímica, de manera que específicamente el par formado por estreptavidina-biotina se ha demostrado valioso. Las partículas magnéticas están recubiertas, por ejemplo, con un polímero de estreptavidina, mientras que la biotina está unida a las moléculas complejas.

45 En la célula de medición, las partículas magnéticas están atrapadas en la superficie del electrodo de trabajo junto con el complejo marcado unido al mismo en el campo magnético de un imán dispuesto en las proximidades de un electrodo de trabajo. Esto se puede conseguir durante el flujo continuo de la primera mezcla, de manera que se descarga el fluido de incubación de la cavidad de la célula de medición a través del canal de salida de fluido. La acumulación de las partículas magnéticas en los electrodos de trabajo, mientras se efectúa la descarga del fluido de incubación, se llama separación libre de unión.

50 Después de atrapar las partículas magnéticas, se puede introducir un reactivo de medición dentro de la célula en una etapa siguiente, de manera que las partículas magnéticas son lavadas por este reactivo de medición. Esta etapa de lavado está destinada a eliminar componentes no unidos del electrodo de trabajo, que potencialmente interfieren con la reacción electroquímica.

55 Después de ello, la reacción de electroquimioluminiscencia es puesta en marcha por la aplicación de un potencial eléctrico al electrodo de trabajo, de manera que la intensidad de la luz luminiscente es detectada por medio de un fotosensor y se puede evaluar como medición de la concentración de las partículas magnéticas marcadas sobre la superficie del electrodo de trabajo, de manera que esta concentración sirve nuevamente como medición de la concentración del analito de la muestra.

60 Después de la medición de electroquimioluminiscencia, la célula es, usualmente, aclarada con fluido de limpieza, que en una etapa posterior puede ser descargado con el reactivo de medición para acondicionar la célula para la siguiente medición.

65

Es esencial para la calidad de la medición que la etapa de lavado antes mencionada sea eficaz, de manera que en la mezcla del reactivo de medición y las partículas magnéticas, separadas del incubado, exista un contenido lo más reducido posible de componentes de interferencia, por ejemplo, componentes de muestra. Estos componentes de interferencia podrían provocar cambios en la señal de medición. Estas interferencias de medición son también llamadas efectos de matriz. Si la etapa de lavado antes mencionada se lleva a cabo de manera demasiado violenta, esto puede conducir, sin embargo, a efectos negativos si, por ejemplo, debido a velocidades de flujo demasiado grandes, turbulencias, etc., se eliminan partículas magnéticas de su posición sobre el electrodo de trabajo.

En células de medición conocidas del tipo definido en el preámbulo de la reivindicación 1, el canal de entrada de fluido y el canal de salida de fluido se encuentran en la cavidad de la célula de medición ortogonalmente con respecto a la dirección longitudinal de la cavidad de la célula de medición alargada, de manera que cuando se hace pasar fluido a través de la célula de medición, el flujo de fluido correspondiente es desviado bruscamente en un ángulo de 90° cuando es introducido en la cavidad de la célula de medición, y finalmente, otra vez en un ángulo de 90° cuando es descargado de la cavidad de la célula de medición. Esta geometría de los canales de fluido fue establecida debido a razones de construcción y producción, y hasta el momento se ha considerado que eran apropiadas para un funcionamiento óptimo de la célula de medición. En células de medición conocidas, el cuerpo de las mismas comprende un bloque de base que es atravesado por el canal de entrada de fluido y el canal de salida de fluido y delimita la cavidad de la célula de medición por una de sus superficies laterales, con el electrodo de trabajo sobre la cara periférica de la cavidad de la célula de medición. Los canales de fluido penetran en el bloque de base y se extienden ortogonalmente con respecto al plano de la cara periférica de la cavidad de la célula de medición del bloque de base. Un separador que actúa como arandela, y que tiene un juego central, está dispuesto sobre el bloque de base y forma el límite de la pared lateral de la cavidad de la célula de medición con su contorno interno. Un panel de vidrio acrílico está dispuesto sobre el separador-arandela como ventana óptica, sobre la que está dispuesto el contraelectrodo en oposición al electrodo de trabajo.

Es objetivo de la presente invención dar a conocer una célula de medición del tipo antes mencionado por la que se pueden impedir efectos matriz de la electroquimioluminiscencia de manera más eficaz que en las células de medición genéricas del tipo conocido.

Para solucionar este problema, se sugiere de acuerdo con la presente invención, que en una célula de medición que comprende las características antes mencionadas, el canal de entrada de fluido tenga, como mínimo, aproximadamente, un recorrido curvado de manera continua en el área de transición hacia la cavidad de la célula de medición, de manera que el canal de entrada de fluido en su extremo que se une a la cavidad de la célula de medición, esté conformado de manera tal que constituya un transcurso continuo de la transición entre el canal de entrada del fluido y la cavidad de la célula de medición para generar un perfil de flujo casi continuo de modo permanente cuando se introduce el fluido en la cavidad de la célula de medición.

Los inventores han observado que, al influir en el comportamiento del flujo en la cavidad de la célula de medición, particularmente en la separación libre de unión y la etapa de lavado, avanzando la etapa de medición de luminiscencia, se pueden realizar de manera más eficaz y, al mismo tiempo, más suave para la acumulación de partículas magnéticas y los complejos marcados unidos a las mismas, atrapados sobre el electrodo de trabajo. Se ha demostrado mediante pruebas que, un flujo relativamente lento y continuado durante la etapa libre de unión y de lavado, hace que la medición de la luminiscencia tenga lugar, comporta los mejores resultados respecto a la supresión de los efectos matriz mencionados. Además, los inventores han observado que el comportamiento del flujo en la cavidad de la célula de medición puede ser influida también en las proximidades del electrodo de trabajo mediante medidas constructivas geométricas en la transición, desde el canal de entrada de flujo a la cavidad de la célula de medición, y se pueden optimizar, en cuanto a homogeneidad, al construir el canal de entrada de fluido en su extremo de unión, de manera tal que descargue dentro de la cavidad de la célula de medición, permitiendo un flujo continuo en la transición a la cavidad de la célula de medición.

Se pueden escoger disposiciones geométricas del canal de entrada de fluido en su transición a la cavidad de la célula de medición que eviten desviaciones bruscas del flujo de fluido cuando se introduce en la cavidad de la célula de medición.

Preferentemente, también el canal de salida de fluido debe estar conectado con un recorrido continuo y constante a la cavidad de la célula de medición, por ejemplo, al tener un transcurso, como mínimo, aproximadamente curvado de manera permanente en la zona de transición hacia la cavidad de la célula de medición, o alejándose de la misma en dirección longitudinal o, en caso necesario, formando un pequeño ángulo con respecto a la dirección longitudinal de la cavidad de la célula de medición.

Preferentemente, el cuerpo de la célula de medición comprende un bloque de base atravesado por el canal de entrada de fluido y el canal de salida de fluido y que limita la cavidad de la célula de medición con una de sus superficies laterales, estando dispuesto el electrodo de trabajo en la cara periférica de la cavidad de la célula de medición.

5 De acuerdo con una realización preferente de la célula de medición, el canal de entrada de fluido y el canal de salida de fluido se extienden, como mínimo, aproximadamente, de forma ortogonal al plano de la cara periférica de la cavidad de la célula de medición, en el bloque de base, conduciendo hacia dentro de la cavidad de célula de medición, en la cara periférica de la cavidad de la célula de medición, en los extremos axiales de la cavidad de la célula de medición longitudinal.

10 Un separador, que actúa preferentemente como cierre de estanqueidad y que tiene un juego central, está asentado sobre la cara periférica de la cavidad de la célula de medición. El separador tiene un contorno interno que limita lateralmente la cavidad de la célula de medición. Una tapa o panel que comprende o actúa como ventana óptica está colocado sobre el separador y fijado al bloque de base y, en particular, está atornillado directamente con el mismo. Como alternativa, se podría disponer de un sensor de luz en vez de la ventana, como elemento de visión.

15 De acuerdo con otra realización preferente de la célula de medición, el bloque de base comprende un espacio hueco para recibir un imán en el lado del electrodo de trabajo, alejado de la cavidad de la célula de medición.

Una realización de la célula de medición, según la invención, es explicada en mayor detalle, a continuación.

20 La figura 1 muestra una vista en sección de una célula de medición, de acuerdo con la invención, con el plano de sección caracterizado en A-A de la figura 2.

La figura 2 muestra la célula de medición de la figura 1, según una vista central desde una dirección de visionado, indicada con la flecha B en la figura 1.

25 La figura 3 muestra una vista frontal de la célula de medición con la tapa de la ventana desmontada.

30 De acuerdo con la figura 1, la célula de medición comprende el bloque de base 2, preferentemente realizado a base de un material no conductor, que es atravesado por los canales 4 y 6. El bloque de base 2 comprende una cara periférica 8 de la cavidad de la célula de medición, en la que está colocado un elemento de estanqueidad y/o un elemento separador 10, cuyo contorno se muestra en la figura 3. El elemento de estanqueidad y/o separador 10 actúa como separador de la tapa 12 realizada en un vidrio acrílico o similar, soportado sobre el mismo, que sirve como elemento de visionado óptico para un fotosensor externo para la detección de luminiscencia.

35 La tapa 12 de la ventana está roscada directamente sobre el bloque de base 2 por medio de tornillos (no mostrados en las figuras). Los tornillos también penetran en el elemento de estanqueidad y/o separador 10 actuando como separador entre la etapa de la ventana 12 y el bloque de base 2 (ver la forma del orificio del tornillo en las figuras 2 y 3).

40 El elemento de estanqueidad y/o separador 10 tiene una abertura central 13 (ver figura 3), cuyo contorno marginal interno define la medida longitudinal de la cavidad de la célula de medición 14, aproximadamente rómbica del ejemplo, que por el resto está delimitada por la cara periférica 8 del bloque de base 2 y la tapa 12 de la ventana. El electrodo de trabajo 16 está incorporado en la cara periférica 8 de la cavidad de la célula de medición en el bloque de base 2. El contraelectrodo está situado (no mostrado en las figuras) en la tapa 12 de la ventana, en oposición a dicho electrodo de trabajo 16. Además, se dispone un espacio hueco 18 en el bloque de base 2, en el lado del electrodo de trabajo 16 alejado de la tapa 12 de la ventana, recibiendo dicho espacio hueco 18 el imán para atrapar las partículas magnéticas durante la etapa de separación libre de unión.

50 Tal como se puede apreciar en la figura 1, los canales 4, 6 conducen a la cavidad 14 de la célula de medición cerca de los extremos axiales de la misma, teniendo dichos canales 4, 6 un transcurso curvado de manera continuada, visible en 20, 22 en la región de transición a la cavidad 14 de la célula de medición, a efectos de generar un perfil de flujo continuado cuando se introduce fluido dentro de la cavidad de la célula de medición y para proporcionar una descarga suave del fluido desde dicha cavidad 14 a través del canal 6 de salida de fluido.

55 Dicha célula de medición permite un intercambio eficaz de fluidos y/o mezclas de fluidos en la cavidad 14 de la célula de medición y, en caso requerido, una entrada permanente con fluidos y/o mezclas de fluidos en la cavidad 14 de la célula de medición, especialmente fluidos de lavado, de manera que es posible conseguir de manera fácil una preparación bastante purificada de la acumulación de partículas magnéticas sobre el electrodo de trabajo 16 y, por lo tanto, la supresión de los efectos de matriz.

60 Además, la función de la célula de medición de la invención es más tolerante con respecto a las variaciones de fabricación de los componentes.

**REIVINDICACIONES**

1. Célula de medición para llevar a cabo mediciones de electroquimioluminiscencia, que comprende,

5 un cuerpo (2, 10, 12) de la célula de medición que tiene una cavidad (14) de la célula de medición en forma de un canal alargado (13), extendiéndose transversalmente un canal de entrada de fluido (4) con respecto a la dirección longitudinal de la cavidad (14) de la célula de medición, hacia esta última, para la entrada de fluido en la cavidad (14) de la célula de medición y un canal de salida de fluido (6) para descargar fluido de dicha cavidad (14) de la célula de medición, como mínimo, un electrodo de trabajo (16) y un contraelectrodo sobre dicha cavidad de la célula de medición o en la misma, y

15 un elemento de visionado óptico (12) en dicho cuerpo de la célula de medición para observar efectos de electroquimioluminiscencia en dicha cavidad (14) de la célula de medición, caracterizada porque el canal (4) de entrada de fluido tiene un transcurso curvado, por lo menos, aproximadamente, continuo (20) en el área de transición a la cavidad de la célula de medición, de manera que el canal (4) de entrada de fluido en su extremo unido a la cavidad de la célula de medición, está conformado de manera tal que genera un perfil de flujo, fundamentalmente continuado cuando se introduce fluido en dicha cavidad (14) de la célula de medición.

20 2. Célula de medición, según la reivindicación 1, caracterizada porque el canal (6) de salida de fluido tiene un transcurso curvado, por lo menos, aproximadamente, continuo (22) en el área de transición a la cavidad (14) de la célula de medición.

25 3. Célula de medición, según la reivindicación 1, caracterizada porque el canal (6) de salida de fluido está conectado a la cavidad (14) de la célula de medición con un transcurso continuo, y conduce en alejamiento de la cavidad de la célula de medición extendiéndose en la dirección longitudinal de la misma.

30 4. Célula de medición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el cuerpo de la célula de medición comprende un bloque de base (2), atravesado por el canal (4) de entrada de fluido y el canal (6) de salida de fluido, y que delimita la cavidad (14) de la célula de medición con una de sus caras periféricas (8), de manera que el electrodo de trabajo (16) está dispuesto en dicha cara periférica (8) de dicha cavidad de la célula de medición.

35 5. Célula de medición, según la reivindicación 4, caracterizada porque el canal (4) de entrada de fluido y el canal (6) de salida de fluido se extiende, por lo menos, aproximadamente, ortogonalmente con respecto al plano que delimita la cara periférica (8) de la cavidad de la célula de medición de dicho bloque de base (2) en la mencionada base de bloque (2), y conduce a la cavidad (14) de la célula de medición en dicha cara periférica (8) de dicha cavidad de la célula de medición.

40 6. Célula de medición, según una de las reivindicaciones 4 ó 5, caracterizada porque un separador (10) está colocado sobre la cara periférica (8) de dicho bloque de base (2) y comprende un contorno interno que delimita lateralmente dicha cavidad (14) de la célula de medición, de manera que una tapa (12), que comprende o actúa como ventana óptica, está soportada sobre dicho separador (10), estando dicha tapa fijada, preferentemente atornillada, a dicho bloque de base (2).

45 7. Célula de medición, según una de las reivindicaciones 4, 5 ó 6, caracterizada porque dicho bloque de base (2) comprende un espacio hueco (18) para recibir un imán en el lado de dicho electrodo de trabajo (16), alejado de la cavidad (14) de la célula de medición.

50 8. Utilización de una célula de medición, según una de las reivindicaciones anteriores, para llevar a cabo mediciones de electroluminiscencia para el análisis de muestras.

