

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 381 334**

51 Int. Cl.:  
**G01N 33/543** (2006.01)  
**G01N 33/531** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **01934405 .0**  
96 Fecha de presentación: **30.05.2001**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1205755**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.05.2002**

54 Título: **Procedimientos de turbidimetría de látex inmunológica y reactivo para el mismo**

30 Prioridad:  
**30.05.2000 JP 2000159729**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**25.05.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**25.05.2012**

73 Titular/es:  
**Mitsubishi Chemical Medience Corporation**  
**2-8, Shibaura 4-chome Minato-ku**  
**Tokyo 108-8559 , JP**

72 Inventor/es:  
**MIYAMOTO, Atsushi;**  
**SAWAI, Tokio;**  
**MATSUYA, Takeshi y**  
**OKUYAMA, Tsuneo**

74 Agente/Representante:  
**Carpintero López, Mario**

ES 2 381 334 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

Procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica y reactivo para el mismo

### Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica y a un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica, haciendo uso cada uno de una reacción antígeno-anticuerpo. Más particularmente, la presente invención se refiere a un procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica y a un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica, siendo cada uno capaz de reducir una reacción de aglutinación no específica y aplicándose preferentemente en un analizador automatizado. El término "analizar" como se usa en el presente documento incluye una medición para determinar cuantitativa o semicuantitativamente una cantidad de un antígeno o anticuerpo para someterse a ensayos y una detección para juzgar una presencia o ausencia de un antígeno o anticuerpo para someterse a ensayos.

### Técnica anterior

15 Los reactivos de ensayo inmunológico que hacen uso de una reacción antígeno-anticuerpo se usan como un reactivo para analizar cuantitativamente un componente particular, tal como un antígeno o anticuerpo para someterse a ensayo, en una muestra líquida. De los reactivos, se usa ampliamente un procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica, porque se puede llevar a cabo una determinación cuantitativa por un analizador automatizado y por procedimientos fáciles. En el procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica, se analizó una aglutinación de las partículas de látex por un cambio en la absorbancia o por una turbidez. La aglutinación está causada por una reacción antígeno-anticuerpo entre las partículas de látex que llevan en ellas antígenos o anticuerpos y anticuerpos o antígenos en una muestra líquida.

20 Recientemente, se ha deseado un análisis simple, rápido y de sensibilidad alta en un campo de análisis usando un analizador automático como anteriormente. Así, se han requerido un procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica y un reactivo para ello para satisfacer la necesidad anterior.

25 Hasta ahora, el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica contiene una seroalbúmina bovina (en adelante referida algunas veces como BSA) y/o una BSA modificada térmicamente, para potenciar una sensibilidad, acelerar una dispersión de partículas de látex suspendidas, o evitar una aglutinación no específica causada por una unión no específica de proteínas o similares en una muestra, al látex. Esto es debido a que algunos de los pacientes a partir de los que se toman muestras tienen anticuerpos frente a BSA, debido a un cambio reciente de hábitos alimentarios. El BSA añadido a un reactivo de análisis puede aceptar un anticuerpo anti-BSA del paciente. Por ejemplo, en un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica que lleva un antígeno proveniente de *Streptococcus haemolyticus* (estreptolisina O; en adelante referido algunas veces como SLO) para detectar un anticuerpo de SLO, se añade BSA térmicamente modificada para absorber la reacción no específica. Sin embargo, aún quedan muestras que muestran una reacción no específica que no puede absorberse sólo por una adición de la BSA térmicamente modificada. Éste ha sido un problema a resolverse.

35 Database Medline, US National Library of Medicine, Bethesda, MD, EE.UU., octubre de 1999, Hanai Y. y cols., Número de Acceso de Base de Datos NLM10616286 revela un procedimiento de turbidimetría de microagregación de látex para detección de O-anticuerpos de anti-estreptolisina.

Falchuk K.R. y cols., *Gastroenterology*, vol. 70, n.º: 1976, p. 5-8 se refiere a anticuerpos circulantes frente a albúmina bovina en colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, en particular a la caracterización de la respuesta de anticuerpos.

40 El documento JP 58 144 748 A se refiere a un reactivo de látex para reacciones inmunológicas con estabilidad y sensibilidad mejoradas.

El documento JP 11 023 573 A también revela un procedimiento de inmunoagregación de látex usando albúmina desnaturalizada térmicamente.

45 El documento US 4.427.781 se refiere a inmunoensayos de proteínas y a la evitación de interferencia del ensayo con otras proteínas tales como factores del complemento en el fluido para someterse a ensayo.

### Divulgación de la invención

50 De acuerdo con ello, un objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica capaz de evitar una influencia de una reacción no específica y una mejora de una evitación tal, manteniendo mientras una especificidad alta para un antígeno o anticuerpo para someterse a ensayo y un reactivo para ello. En particular, el objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica capaz de un análisis fácil, rápido y de alta sensibilidad cuando se aplica a un analizador automatizado y un reactivo para ello.

El problema anterior puede resolverse por la presente invención, es decir, un procedimiento de turbidimetría inmunológica para analizar antígeno o anticuerpo en una muestra de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende las etapas de:

- 5 (1) poner una muestra que puede contener el antígeno o anticuerpo a analizarse en contacto con una albúmina tratada con proteasa; y
- (2) poner una mezcla obtenida en la etapa anterior (1) en contacto con partículas de látex que llevan un anticuerpo o antígeno que se hace reaccionar específicamente con el antígeno o anticuerpo para someterse a ensayo y analizar una turbidez causada por una reacción de aglutinación de látex.

10 Adicionalmente, la presente invención se refiere a un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con la reivindicación 6 que comprende (1) un primer componente que contiene la albúmina tratada por proteasa y (2) un segundo componente que contiene partículas de látex que lleva un anticuerpo o antígeno que se hace reaccionar específicamente con un antígeno o anticuerpo para someterse a ensayo.

### Mejor forma de llevar a cabo la invención

15 De acuerdo con la presente invención, una albúmina tratada con proteasa, preferentemente una seroalbúmina tratada con proteasa, más preferentemente una BSA tratada con proteasa, se usa como un agente para reducir una reacción no específica en un análisis de turbidimetría de látex inmunológica, por lo que una reacción no específica de las partículas de látex se puede evitar sin bajar una especificidad de reactivo.

20 La expresión "análisis de turbidimetría de látex inmunológica" como se usa en el presente documento quiere decir un análisis óptico de un fenómeno de aglutinación acompañado por una reacción inmunológica causada en transportadores de látex que llevan un antígeno (o anticuerpo) cuando se ponen en contacto con un antígeno (o anticuerpo) en una muestra, por un cambio de una absorbancia o una turbidez.

25 Una muestra que puede analizarse por el procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención o el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención no está particularmente limitada, mientras sea una muestra que pueda contener posiblemente un antígeno o anticuerpo a analizarse. Por ejemplo, la muestra puede ser un líquido tomado de un cuerpo vivo y usado generalmente en un examen clínico, tal como un suero, plasma, u orina.

30 La albúmina tratada con proteasa usada en la presente invención no está particularmente limitada, mientras sea una albúmina fragmentada, preferentemente una seroalbúmina fragmentada, más preferentemente una BSA fragmentada, preparada por un tratamiento de proteasa. La albúmina a tratarse puede ser una albúmina preparada a partir de una fuente que se da en la naturaleza, una albúmina recombinante (preferentemente una albúmina bovina recombinante), o una albúmina sintetizada parcialmente. La presente invención se explicará más adelante con respecto a la BSA, que es una realización preferida.

35 La proteasa no está particularmente limitada, mientras pueda reducir la reacción de aglutinación no específica sin bajar una sensibilidad del reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención, por ejemplo, pepsina, papaína, o tripsina. La proteasa anterior puede usarse individualmente o en combinación de la misma. De las proteasas como anteriormente, la pepsina es preferible con respecto al coste y la estabilidad. Por ejemplo, la BSA tratada con proteasa puede prepararse manteniendo la BSA en una condición ácida y añadiendo una proteasa a ella. El producto de reacción tratado con proteasa resultante se puede usar en la presente invención, sin purificación.

40 La expresión "tratamiento de proteasa" como se usa en el presente documento quiere decir un tratamiento para descomponer una albúmina que se da en la naturaleza para obtener fragmentos plurales, más particularmente, un tratamiento para descomponer albúmina en aproximadamente 2 a 10 fragmentos, preferentemente 4 a 8 fragmentos. Por ejemplo, se sabe que una seroalbúmina puede descomponerse por pepsina en 2 a 7 fragmentos y el fragmento resultante tiene un peso molecular de aproximadamente 5000 a 50000. En la presente invención, los fragmentos resultantes se pueden usar sin separar cada uno de los fragmentos, es decir, en forma de una mezcla de los fragmentos. Alternativamente, es posible separar los fragmentos resultantes en fragmentos individuales, combinando una pluralidad de los fragmentos separados, por ejemplo, 2 a 9 fragmentos y usar los fragmentos combinados.

45 Un procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica convencional se puede aplicar al procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención, salvo que, antes de poner una muestra en contacto con partículas de látex que llevan un anticuerpo o antígeno, es decir, una suspensión de partículas de látex, la muestra se pone en contacto con la BSA tratada con proteasa.

50 Una concentración de la BSA tratada con proteasa para ponerse en contacto con la muestra no está particularmente limitada, mientras que pueda inhibir la reacción no específica y no influya en la reacción turbidimétrica de látex, pero es preferentemente 0,1 al 1,5 %, más preferentemente 0,35 al 0,8 %. La unidad "%" como se usa en el presente documento con respecto a la concentración de la BSA tratada con proteasa significa un % de masa frente a volumen, es decir % p/v. Si la concentración es inferior al 0,1 %, la reacción no específica no puede inhibirse suficientemente. No surge ningún problema en particular cuando la concentración es más del 1,5 %. No obstante, no se puede esperar un

efecto ventajoso con un incremento de la concentración. Adicionalmente, se supone que una concentración alta influye a la reacción turbidimétrica de látex por sí misma. Por lo tanto, un aumento de la concentración sobre el límite superior anterior no tiene sentido en obtener el efecto ventajoso de la presente invención, es decir, en inhibir la reacción no específica.

- 5 Como las partículas de látex que llevan un antígeno o anticuerpo, se pueden usar cualesquiera partículas que lleven un antígeno o anticuerpo para el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica en la presente invención.

10 Como las partículas de látex, se pueden usar partículas de látex convencionales en la presente invención. Por ejemplo, las partículas de látex pueden ser partículas de materiales orgánicos de alto peso molecular, tales como partículas de látex de poliestireno, copolímero de estireno-ácido metacrílico, copolímero de (met)acrilato de estireno-glicidilo, o copolímero de estireno-sulfato de estireno. Un tamaño de partícula promedio de las partículas de látex puede ser el mismo que aquel de las partículas de látex convencionales y no está particularmente limitado.

15 El antígeno o anticuerpo transportado en las partículas de látex no está particularmente limitado, mientras pueda causar la reacción antígeno-anticuerpo con el anticuerpo o antígeno a analizarse. Por ejemplo, se pueden utilizar un anticuerpo anti- $\beta$ 2-microglobulina ( $\beta$ 2-M), anticuerpo anti-fracción D de productos descompuestos de fibrina (FDP-D), anticuerpo anti-fracción D de productos descompuestos de fibrina (FDP-E), anticuerpo anti-fracción DD de productos descompuestos de fibrina (FDP-DD), anticuerpo anti-albúmina, anticuerpo anti-ferritina, anticuerpo anti- $\alpha$ -fetoproteína (AFP), insulina, anticuerpo anti-insulina, o un antígeno o anticuerpo de *Treponema pallidum* (TP), estreptolisina O (SLO), o virus de la hepatitis B (VHB).

20 Las partículas de látex se pueden sensibilizar con un antígeno o anticuerpo de acuerdo con un procedimiento conocido, por ejemplo, un procedimiento de adsorber físicamente. Es preferible usar las partículas de látex que llevan aproximadamente un 0,001 al 1 % en masa de antígeno o anticuerpo.

25 La reacción no específica está frecuentemente causada no sólo por la reacción con la BSA, sino también por productos digeridos de la BSA. Hasta el momento, sin embargo, no había ningún procedimiento para hacer frente a los productos digeridos de la BSA. Además, no se puede esperar un efecto para los productos digeridos del BSA por una adición de BSA, o el efecto es insuficiente. Por lo tanto, es particularmente significativo un significado técnico en que la muestra se pone en contacto no sólo con la BSA, sino también con la BSA tratada con proteasa antes de llevar a cabo la reacción antígeno-anticuerpo, por lo que una parte de materiales reactivos con el BSA y de los productos digeridos de la BSA en la muestra están enmascarados y se inhibe la reacción no específica causada por la BSA y los productos digeridos de la BSA.

30 De acuerdo con ello, la albúmina tratada con proteasa se puede usar en vez de o además de una albúmina, preferentemente una seroalbúmina, más preferentemente una BSA, y/o una albúmina modificada, preferentemente una seroalbúmina modificada, más preferentemente una BSA modificada que se ha usado hasta el momento para inhibir la reacción no específica, en la presente invención.

35 Un tampón que se puede usar en la presente invención no está particularmente limitado, mientras que se puede usar en un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica conocido. Ejemplos del tampón son un tampón de tris, un tampón fosfato, un tampón de glicina, un tampón borato, un tampón de Good, o similares.

40 En la presente invención, se pueden usar cualesquiera aditivos, tales como un estabilizador, que se puedan usar en un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica mientras no causen una pérdida del efecto de la presente invención. El estabilizante puede ser, por ejemplo, una sal inorgánica, tal como cloruro de sodio o azida de sodio, una proteína tal como una seroalbúmina bovina, o cloruro de colina. Una cantidad de los estabilizadores añadidos no está particularmente limitada. Por ejemplo, cuando se añade cloruro de sodio, la concentración del mismo es preferentemente de 50 a 300 mmol/l. La concentración de azida de sodio es preferentemente 0,01 al 1 %, la concentración de seroalbúmina bovina es preferentemente 0,1 al 10 %, y la concentración de cloruro de colina es preferentemente 0,1 al 30 %.

45 El reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención contiene la BSA tratada con proteasa y las partículas de látex que llevan en ellas un antígeno o anticuerpo y es un sistema compuesto de al menos dos componentes reactivos. Debido a que la BSA tratada con proteasa puede ponerse en contacto con la muestra antes de que la muestra se ponga en contacto con las partículas de látex de la presente invención, la BSA tratada con partículas está contenida al menos en un componente reactivo que se pone en contacto con la muestra antes de que se lleve a cabo la reacción antígeno-anticuerpo. Después de que el componente reactivo que contiene la BSA tratada con proteasa se pone en contacto con la muestra, la muestra se pone en contacto con un componente reactivo que contiene las partículas de látex, para llevar a cabo la reacción antígeno-anticuerpo. El componente reactivo que contiene las partículas de látex puede o no puede contener la BSA tratada con proteasa.

55 En general, un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica convencional está compuesto de una suspensión de las partículas de látex que llevan un antígeno o anticuerpo y un tampón que estabiliza la muestra, mientras que el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención contiene adicionalmente la BSA tratada con proteasa además de aquella. Por lo tanto, el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención puede estar compuesto de los mismos ingredientes que aquellos del reactivo de turbidimetría de látex inmunológica conocido

habitualmente utilizado, salvo que la BSA tratada con proteasa está contenida al menos en un componente reactivo que se pone en contacto con la muestra antes de que se lleve a cabo la reacción antígeno-anticuerpo. Como se menciona anteriormente, partículas de látex, un antígeno o anticuerpo, un tampón, y/o aditivos que pueden usarse en el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica conocido pueden usarse también en el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención, según se usan. Adicionalmente, la albúmina, preferentemente seroalbúmina, más preferentemente BSA, y/o una albúmina modificada, preferentemente una seroalbúmina modificada, más preferentemente una BSA modificada que se ha usado para inhibir la reacción no específica pueden usarse también en la presente invención.

Cuando el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención está compuesto por el sistema de componentes reactivos, ello puede estar, por ejemplo, compuesto por un primer reactivo, es decir, un primer componente, que contiene un tampón para estabilizar una muestra y una BSA tratada con proteasa y un segundo reactivo, es decir, un segundo componente, que contiene partículas de látex que llevan en ellas un antígeno o anticuerpo.

El reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención puede ser un sistema de tres componentes reactivos, pero es preferible un sistema de dos componentes reactivos, debido a que el número de los componentes reactivos es pequeño y los procedimientos para el análisis pueden simplificarse. Una concentración de la BSA tratada con proteasa en el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención no está particularmente limitada, mientras la reacción no específica se pueda inhibir cuando la BSA tratada con proteasa contenida en el reactivo de la presente invención se pone en contacto con la muestra y la reacción turbidimétrica de látex por sí misma no está influida. Por ejemplo, cuando el reactivo de la presente invención es el sistema de dos componentes de reactivo compuesto del primer reactivo que contiene el tampón para estabilizar la muestra y la BSA tratada con proteasa y el segundo reactivo que contiene las partículas de látex que lleva un antígeno o anticuerpo, una cantidad de la BSA tratada con proteasa en el primer reactivo puede ser preferentemente 0,1 a 1,5 %, más preferentemente 0,35 a 0,8 %. Cuando la cantidad es menos que el 0,1 %, la reacción no específica no puede inhibirse siempre suficientemente. No surge ningún problema en particular cuando la cantidad es más del 1,5 %. No obstante, no se puede esperar un efecto ventajoso con un incremento de la concentración. Adicionalmente, se supone que una concentración alta influye a la reacción turbidimétrica de látex por sí misma. Por lo tanto, un aumento de la concentración sobre el límite superior anterior no tiene sentido en obtener el efecto ventajoso de la presente invención, es decir, en inhibir la reacción no específica.

Un procedimiento para añadir la BSA tratada con proteasa no está limitado. Por ejemplo, cuando el reactivo de la presente invención es el sistema de dos componentes reactivos compuesto por el primer componente reactivo que contiene el tampón para estabilizar la muestra y la BSA tratada con proteasa y el segundo componente reactivo que contiene las partículas de látex que llevan un antígeno o anticuerpo, una cantidad predeterminada de la BSA tratada con proteasa puede disolverse en el tampón para estabilizar una muestra.

Una realización del reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención no está particularmente limitada. Sin embargo, el reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención es adecuado para un análisis usando un analizador automatizado y así se usa preferentemente como un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica para análisis automatizado. Ello es particularmente preferible para un análisis de turbidimetría de látex inmunológica de un anticuerpo de estreptolisina O (SLO).

Más particularmente, una realización preferible del reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención es como sigue:

(A) un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica para un análisis automatizado, que comprende un componente reactivo que contiene la BSA tratada con proteasa (preferentemente a una cantidad del 0,1 al 1,5 %) en el tampón para estabilizar una muestra y un segundo componente reactivo, es decir, una suspensión de las partículas de látex que lleva en ella un antígeno o anticuerpo; o

(B) un reactivo de turbidimetría de látex inmunológica para un análisis automatizado para detectar un anticuerpo de SLO, que comprende un primer componente reactivo que contiene la BSA tratada con proteasa (preferentemente a una cantidad del 0,1 al 1,5 %) en el tampón para estabilizar una muestra y un segundo componente reactivo, es decir, una suspensión de las partículas de látex que lleva en ella un antígeno de SLO.

Como una realización concreta del reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención, un sistema de dos componentes reactivos compuesto de un primer componente reactivo que contiene el tampón para estabilizar una muestra y BSA tratada con proteasa y un segundo componente reactivo que contiene las partículas de látex que llevan en ella un antígeno o anticuerpo se muestra como sigue (las concentraciones dadas a continuación son intervalos preferibles de las mismas pero no limitan el alcance de la presente invención):

Un primer componente reactivo, una solución que contiene los siguientes componentes (1) a (3),

(1) 0,1 a 1,5 % de BSA tratada con proteasa,

(2) tampón a 20 a 1000 mmol/l, pH 4 a 12 y

(3) 50 a 300 mmol/l de cloruro sódico.

Un segundo componente reactivo, una suspensión que contiene los siguientes compuestos (4) a (6),

(4) tampón a 20 a 1000 mmol/l, pH 4 a 12,

(5) 0,01 a 0,5 % p/v de partículas de látex que llevan en ellas un antígeno o anticuerpo y

5 (6) 50 a 300 mmol/l de cloruro sódico.

El tampón usado en el primero y segundo componentes reactivos puede ser, por ejemplo, un tampón tris, un tampón fosfato, un tampón de glicina, un tampón borato, o un tampón de Good. El primer componente reactivo se puede preparar, por ejemplo, mezclando BSA tratada con proteasa al 0,1 a 1,5 % con un tampón.

### Ejemplos

10 La presente invención se ilustrará ahora adicionalmente mediante, pero no se limita de ninguna manera a, los siguientes ejemplos.

#### Ejemplo 1: preparación de una BSA tratada con proteasa

Una seroalbúmina bovina (Sigma; 500 mg) se añadió a 10 ml de agua purificada. El conjunto se dejó reposar a temperatura ambiente durante 1 hora y un valor de pH se ajustó a 3,0 añadiendo ácido fórmico con agitación por una barra giratoria. El producto se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos, después, se añadieron a ello 167 µl de una solución de pepsina (solución de ácido clorhídrico a 0,01 mol/l que contenía pepsina a una concentración de 1 mg/ml) con agitación por una barra giratoria. El conjunto se dejó reposar en una cámara termostática a 25 °C durante 30 minutos. Después, un valor de pH se ajustó a 7,0 por 2 mol/l de solución de tris con agitación por una barra giratoria y se añadió azida de sodio tal que su concentración llegó a ser 0,1 %, obteniendo una BSA tratada con proteasa.

#### Ejemplo 2: medida de un antígeno de estreptolisina O (SLO) en suero

##### (1) Preparación de un segundo reactivo (una suspensión líquida de látex que lleva un antígeno de estreptolisina O)

Se añadió carbodiimida (40 mg) a 38 ml de una suspensión líquida de partículas de poliestireno (concentración de látex = 5 %, tamaño de partícula promedio = 0,18 µm), y después, 20 ml de una solución que contenía 2,8 mg/ml de estreptolisina O diluida con tampón borato a 10 mmol/l (pH 8,2). El conjunto se mezcló y se agitó a 4 °C durante toda una noche. Después, se añadieron 9,5 ml de solución de lisina al 20 %. El conjunto se dejó en reposo durante 0,5 horas y se centrifugó obteniéndose un residuo, es decir, los látex que llevan el antígeno de estreptolisina O. Al residuo resultante, se añadieron 190 ml de una solución acuosa que contiene seroalbúmina bovina al 0,5 % y el conjunto se dejó reposar durante 0,5 horas. Después, un residuo (es decir, los látex que llevan el antígeno de estreptolisina O) preparado por centrifugación se suspendió añadiendo 950 ml de tampón borato a 10 mmol/l (pH 8,2), obteniéndose un componente de segundo reactivo para el reactivo de análisis turbidimétrico de látex inmunológico de la presente invención.

##### (2) Preparación de un primer reactivo (tampón)

35 Como un primer componente reactivo para el reactivo de análisis turbidimétrico de látex inmunológico de la presente invención, se preparó tampón tris (pH 8,2) a 0,17 mol/l que contiene cloruro sódico a 0,31 mol/l, EDTA a 4,5 mmol/l, seroalbúmina bovina al 0,2 %, gelatina al 0,1 % y BSA tratada con proteasa al 0,8 % preparada en el Ejemplo 1 [concentración final de un sistema que contiene cantidades equivalentes del primer componente reactivo y del segundo componente reactivo = 0,4 %].

40 Para comparación, se preparó un tampón comparativo (un primer reactivo comparativo) compuesto por los mismos ingredientes que aquellos en el primer reactivo para el análisis turbidimétrico de látex inmunológico de la presente invención, salvo que la BSA tratada con proteasa no está contenida.

##### (3) Preparación de una muestra líquida

45 Se usaron cuatro muestras de suero como una muestra no específica. Un valor de anticuerpo anti-SLO de más de un límite superior medible (600 UI/ml) se obtuvo en las cuatro muestras de suero por el procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica convencional, mientras que las cuatro muestras de suero se juzgaron como normales por un procedimiento de Rantz-Randall. Se consideró que las muestras no específicas mostraron los valores altos del anticuerpo anti-SLO debido a la aglutinación no específica. Como una muestra de control, se usó un suero de ser humano normal.

50

**(4) Medida en un analizador automatizado**

5 A 135  $\mu$ l del primer reactivo de la presente invención preparado en el Ejemplo 2 (2), se añadieron 2  $\mu$ l de muestra líquida preparada en el Ejemplo 2 (3) y se agitaron en una celda de vidrio. El conjunto se dejó reposar a 37 °C durante aproximadamente 5 minutos. Después, 135  $\mu$ l del segundo reactivo preparado en el Ejemplo 2 (1) se añadieron con agitación y una cantidad de cambio en una densidad óptica a una longitud de onda de 700 nm en un intervalo desde un punto después de 30 segundos hasta un punto después de 190 segundos. Se usó un analizador automatizado (Hitachi 7170S, Hitachi Ltd.) en los procedimientos anteriores.

Para Ejemplo Comparativo, se repitieron los procedimientos anteriores salvo porque el tampón comparativo (el primer reactivo comparativo) preparado en el Ejemplo 2 (2) se usó en lugar del primer componente reactivo.

10 Los resultados se muestran en la Tabla 1. El analizador no fue capaz de medir un cambio de la absorbancia (dABS) en el Ejemplo Comparativo, mientras que la SLO se midió exactamente de acuerdo con la presente invención usando el reactivo actual.

Tabla 1

	Ejemplo (UI/ml)	Comparativo
<hr/>		
Ejemplo (UI/ml)		
Suero normal	24,2	26,2
<hr/>		
Muestra 1 no específica	47,8	4774 (sobre absorbancia)
Muestra 2 no específica	39,1	11136 (sobre absorbancia)
Muestra 3 no específica	30,3	5300 (sobre absorbancia)
Muestra 4 no específica	47,8	8391 (sobre absorbancia)
<hr/>		

**15 Aplicabilidad Industrial**

El reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de la presente invención presenta una sensibilidad alta como un reactivo y tiene un efecto ventajoso de reducir la reacción no específica. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, una medición de error debida a la reacción no específica puede disminuirse y un análisis de alta sensibilidad usando un analizador automatizado puede llevarse a cabo fácil y rápidamente.

20

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica para analizar un antígeno o anticuerpo en una muestra, que comprende las etapas de:
- 5 (1) tratar albúmina con una proteasa para preparar una albúmina fragmentada;
- (2) someter una muestra que puede contener el antígeno o anticuerpo a análisis en contacto con la albúmina fragmentada preparada por tratamiento de proteasa en la etapa anterior (1); y
- (3) poner una mezcla obtenida en la etapa anterior (2) en contacto con partículas de látex que llevan un anticuerpo o antígeno que se hace reaccionar específicamente con el antígeno o anticuerpo para someterse a ensayo
- 10 y analizar una turbidez causada por una reacción de aglutinación de látex.
2. El procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la albúmina es una seroalbúmina.
3. El procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con la reivindicación 2 en el que la seroalbúmina es una seroalbúmina bovina.
- 15 4. El procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que la proteasa es una pepsina.
5. El procedimiento de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que el anticuerpo a analizarse es un anticuerpo anti-estreptolisina O y el antígeno llevado en las partículas de látex es un antígeno de estreptolisina O.
- 20 6. Un sistema de reactivos de turbidimetría de látex inmunológica que comprende
- (1) un primer componente reactivo que contiene una albúmina fragmentada preparada por tratamiento de proteasa; y
- (2) un segundo componente reactivo que contiene partículas de látex que llevan un anticuerpo o antígeno que reacciona específicamente con un antígeno o anticuerpo para someterse a ensayo.
- 25 7. El reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con la reivindicación 6 en el que la albúmina es una seroalbúmina.
8. El reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con la reivindicación 7 en el que la seroalbúmina es una seroalbúmina bovina.
- 30 9. El reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8 en el que la proteasa es una pepsina.
10. El reactivo de turbidimetría de látex inmunológica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9 en el que el anticuerpo a ser analizado es un anticuerpo anti-estreptolisina O y el antígeno llevado en las partículas de látex es un antígeno de estreptolisina O.