

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 452**

51 Int. Cl.:

G01N 21/51 (2006.01)

G01N 21/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.09.2014** **E 14185251 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.01.2017** **EP 2998726**

54 Título: **Método y dispositivo para la determinación nefelométrica de un analito**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.07.2017

73 Titular/es:

**SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS
PRODUCTS GMBH (100.0%)
Emil-von-Behring-Strasse 76
35041 Marburg, DE**

72 Inventor/es:

**PRYSHCHEPNA, OKSANA y
STEINEBACH, WOLFGANG**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 623 452 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

Método y dispositivo para la determinación nefelométrica de un analito

La presente invención hace referencia a un método para la determinación nefelométrica de un analito, así como a un sistema nefelométrico para un dispositivo de análisis automático.

5 Numerosos procedimientos de comprobación y de análisis para determinar parámetros fisiológicos en muestras de fluidos corporales o en otras muestras biológicas actualmente se realizan mayormente en dispositivos de análisis automáticos, también en los así llamados sistemas de diagnóstico in vitro.

10 Los dispositivos de análisis actuales poseen las condiciones como para realizar una pluralidad de reacciones de comprobación y análisis con una muestra. Para poder realizar automáticamente una pluralidad de análisis se requieren diversos dispositivos para transferir espacialmente células de medición, recipientes de reacción y recipientes para reactivos, como por ejemplo brazos de transferencia con función de sujeción, cintas transportadoras o ruedas transportadoras giratorias, así como dispositivos para la transferencia de líquidos, como por ejemplo dispositivos de pipeteado. Los dispositivos comprenden una unidad de control que, mediante un software correspondiente, pueden planificar y realizar los pasos de trabajo para los análisis deseados, mayormente de forma automática.

15 Muchos de los procedimientos de análisis que utilizan dispositivos de análisis que operan de forma automática se basan en métodos ópticos. La determinación de parámetros clínicamente relevantes, como por ejemplo la concentración o la actividad de un analito, tiene lugar de forma múltiple, donde una parte de una muestra es mezclada con uno o con varios reactivos de prueba en un recipiente de reacción, el cual puede ser también la célula de medición, debido a lo cual se inicia una reacción bioquímica o una reacción de fijación específica, la cual provoca una modificación mensurable de una propiedad óptica o de otra propiedad física de la carga de prueba.

20 Junto con la espectrofotometría, la nefelometría es un método de análisis ampliamente difundido. Mediante la nefelometría, por ejemplo la concentración de partículas coloidales, finamente dispersas, puede determinarse cuantitativamente en líquidos o en gases. Si una suspensión de partículas pequeñas es llevada a un haz luminoso, entonces una parte de la luz incidente es absorbida, otra parte, denominada también haz primario, abandona la suspensión de forma no dispersada y nuevamente otra parte es dispersada lateralmente hacia el haz incidente. En la nefelometría se mide esa luz dispersa que sale de forma lateral.

25 La nefelometría se utiliza principalmente para la comprobación cuantitativa o cualitativa de analitos, por ejemplo de proteínas, los cuales pueden ser probados mediante una reacción de fijación específica entre elementos de fijación específicos, por ejemplo mediante una fijación antígeno - anticuerpo.

30 Un sistema nefelométrico comprende al menos una fuente de luz, al menos un fotodetector, así como al menos una posición de alojamiento para una célula de medición. Generalmente, la disposición de fuente de luz y detector de luz se selecciona de manera que la luz dispersa puede ser medida, la cual se dispersa desde macromoléculas que deben ser probadas en la muestra, por ejemplo agregados de partículas que se producen debido a una reacción dependiente del analito en una carga de reacción.

35 En el mercado existen diferentes formas de construcción que se diferencian en la disposición de la fuente de luz y en la posición de alojamiento para la célula de medición y el fotodetector. Por ejemplo, en una forma de construcción el fotodetector puede estar dispuesto lateralmente con respecto al haz luminoso emitido por la fuente de luz, para registrar la luz dispersada en un rango angular de 90° con respecto a la dirección del haz luminoso emitido por la fuente de luz. Lo mencionado ofrece la ventaja de que la intensidad de la luz dispersa puede ser relativamente reducida y la influencia de la medición, a través de la parte no dispersada del haz luminoso, emitida por la fuente de luz, denominada como haz primario, se vuelve relativamente reducida.

40 En otra forma de construcción, la fuente de luz, la posición de alojamiento y el fotodetector pueden estar dispuestos de manera que el fotodetector registre la luz dispersada en rangos angulares alrededor de la dirección de propagación del haz luminoso emitido por la fuente de luz, en los cuales la intensidad de la luz dispersa es relativamente elevada. En esa geometría, sin embargo, no sólo la luz dispersa alcanza el fotodetector, sino también el haz primario. No obstante, puesto que sólo la parte dispersada de la luz puede contribuir al resultado de medición, para optimizar el resultado de medición se requiere un bloqueo completo del haz primario.

45 Para bloquear el haz primario se utilizan generalmente diafragmas ópticos. Dichos diafragmas son mantenidos en el recorrido óptico mediante fijaciones más delgadas, como por ejemplo alambres y, en cuanto a su tamaño y su forma, se encuentran adaptados de manera que de manera preferente bloquean por completo el haz primario, de manera que exclusivamente la luz dispersa incide en el detector. Preferentemente, la relación de la proporción de luz dispersa con respecto a la proporción del haz primario es inferior a 0,001.

5 Cada vez más se utilizan dispositivos de análisis en los cuales la unidad óptica puede desplazarse de forma relativa con respecto a las células de medición o en los cuales las células de medición pueden desplazarse relativamente con respecto a la unidad óptica. Lo mencionado ofrece la ventaja de que con una unidad óptica puede analizarse una pluralidad de muestras en cierto modo al mismo tiempo, lo cual aumenta de forma significativa el flujo de las muestras.

En la solicitud EP-A1-2309251 se describe un dispositivo para el análisis fotométrico de muestras, donde las células de medición están realizadas de forma fija y dispuestas en forma de un arco de círculo, mientras que la unidad óptica se desplaza en forma de un arco de círculo a lo largo de la disposición de células de medición.

10 En la solicitud EP-A2-0997726 se describe un método para la determinación nefelométrica de un analito en una muestra según el preámbulo de la reivindicación 1, así como un sistema nefelométrico según el preámbulo de la reivindicación 4.

15 En los sistemas ópticos de esa clase, en donde la unidad óptica se desplaza de forma relativa con respecto a la célula de medición (o de forma inversa), el haz luminoso se desplaza a lo largo de un trayecto, preferentemente de forma transversal, a través de la célula de medición, y se registran varios valores de medición, donde debido al desplazamiento cada valor de medición individual proviene de otra posición de la célula de medición. Debido a ello, en las mediciones nefelométricas se produce una curva típica, en forma de una cuba (véase la figura 1), con un primer flanco descendente, una base de la curva y un segundo flanco ascendente. En la entrada (flanco descendente) y en la salida (flanco ascendente) de la célula de medición, así como hacia o desde el haz primario, la luz del haz primario incide en las paredes de la célula de medición, es reflectada o refractada, y es conducida
20 delante del diafragma, el cual debe bloquear el haz primario, hacia el fotodetector. El área esencial para la determinación del analito se encuentra en el área de la base de la curva, donde es máximo el bloqueo del haz primario. Además, debido a tolerancias mecánicas de los componentes desplazados con respecto a la ubicación del volumen disperso en la célula de medición, se produce una modificación entre mediciones temporalmente consecutivas de la misma muestra, lo cual es importante por ejemplo cuando debe registrarse una cinética de la reacción.
25

Por lo tanto, para una determinación de analitos precisa, de la totalidad de las señales medidas de intensidad de la luz es necesario seleccionar para la evaluación posterior aquellas señales de intensidad de la luz que resulten de la parte dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, y que en lo posible no presenten ninguna parte de luz primaria.

30 Por lo tanto, el objeto de la presente invención consiste en mejorar la calidad de medición de un sistema nefelométrico, en donde la fuente de luz, el diafragma y el fotodetector, por una parte, y la posición de alojamiento, por otra parte, puedan desplazarse de forma relativa unos con respecto a otros.

35 Dicho objeto se alcanzará gracias a que a partir que la totalidad de las señales de intensidad de la luz que son registradas durante el pasaje del haz luminoso a lo largo de un trayecto a través de la célula de medición se determina automáticamente la ubicación de un intervalo I que contiene exclusivamente señales de intensidad de la luz que resultan de la parte dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición y que no presentan una parte de luz primaria o que sólo presentan una parte ínfima de dicha luz.

Con ello, es objeto de la presente invención un método para la determinación nefelométrica de un analito en una muestra, donde la muestra se encuentra en una célula de medición. El método comprende los pasos:

40 a. colocación de la célula de medición en un sistema nefelométrico con al menos una unidad óptica, donde la unidad óptica comprende al menos una fuente de luz para emitir un haz luminoso, un diafragma para bloquear la parte no dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición y un fotodetector para recibir partes dispersadas del haz luminoso después de atravesar la célula de medición;

45 b. desplazamiento de la célula de medición y/o desplazamiento de la unidad óptica, de manera que el haz luminoso emitido por la fuente de luz atraviesa un trayecto;

c. registro de las señales de intensidad de la luz recibidas por el fotodetector sobre el trayecto, en donde el haz luminoso emitido por la fuente de luz atraviesa la célula de medición;

50 d. determinación de la ubicación de un intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas, el cual contiene exclusivamente señales de intensidad de la luz que resultan de la parte dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, donde la dimensión del intervalo I resulta de una cantidad definida de señales de intensidad de la luz y es un parámetro predeterminado para el sistema nefelométrico utilizado; y

e. determinación de un analito mediante una señal de intensidad de la señal o a través de un valor medio de varias señales de intensidad de la luz provenientes del intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas.

La ubicación del intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas se determina evaluando las señales de intensidad de la luz registradas sobre el trayecto, del siguiente modo:

- 5 - formación de la primera y de la segunda derivada de las señales de intensidad de la luz registradas sobre el trayecto;
- determinación de una primera posición F_f en el trayecto con las condiciones $f'(x) < 0$ y $f''(x) = 0$;
- determinación de una segunda posición F_s en el trayecto con las condiciones $f'(x) > 0$ y $f''(x) = 0$; y
- determinación de una tercera posición M en el trayecto a través de la fórmula $M = F_f + (F_s - F_f)/2$; y
- 10 - posicionamiento del intervalo I, de manera que la posición M forma el centro del intervalo I.

La dimensión del intervalo I resulta de una cantidad definida de señales de intensidad de la luz y es un parámetro predeterminado para el sistema nefelométrico utilizado. El parámetro depende del tamaño, de la geometría y del material de la célula de medición, de la velocidad con la cual el haz primario se desplaza transversalmente a través de la célula de medición, del tamaño, de la geometría y de la disposición del diafragma para bloquear el haz luminoso de la parte no dispersada, de la cantidad de señales de intensidad de la luz que son registradas durante un pasaje, etc. Para un sistema nefelométrico dado, por tanto, debe determinarse empíricamente cuántas señales de intensidad de la luz sucesivas se obtienen generalmente en el caso de una medición de una muestra típica en una célula de medición típica, las cuales resultan exclusivamente desde la parte dispersada del haz luminoso después de atravesar la muestra/célula de medición, en donde, por lo tanto, el bloqueo del haz primario es máximo. Durante la determinación de la dimensión del intervalo I, específica del sistema nefelométrico utilizado, por una parte, se pretende una cantidad lo mayor posible de señales de intensidad de la luz, porque eso provoca una distancia más grande señal/interferencia; por otra parte, la dimensión del intervalo I debe seleccionarse tan reducida como para asegurar que ni el valor inicial ni el valor final del intervalo alguna vez queden en el área del flanco descendente o ascendente de la curva de la señal.

25 En un sistema nefelométrico a modo de ejemplo, con una unidad óptica que rota alrededor de células de medición dispuestas en forma de arco de círculo y de forma fija (velocidad de rotación 2 Hz) y con células de medición plásticas con una sección transversal circular y un diámetro de aproximadamente 7 mm y una cantidad aproximada de 1.000 señales de intensidad de la luz, las cuales se registran durante un pasaje del haz luminoso a través de una célula de medición, en ensayos previos se determinó por ejemplo un intervalo I de una dimensión de 300 señales de intensidad de la luz, y se estableció para el sistema nefelométrico.

30 La primera posición F_f , determinada como se indicó anteriormente, corresponde al punto de inflexión del flanco descendente de la curva de la señal en forma de cuba.

La segunda posición F_s , determinada como se indicó anteriormente, corresponde al punto de inflexión del flanco ascendente de la curva de la señal en forma de cuba.

35 En una forma de ejecución del método, los pasos del método b)-d) se repiten al menos n-veces, y la determinación del analito en el paso e) tiene lugar a través del valor medio respectivamente de una señal de intensidad de la luz proveniente de n+1 intervalos I o a través de un valor medio proveniente de n+1 valores medios de varias señales de intensidad de la luz provenientes de los n+1 intervalos de las señales de intensidad de la luz registradas. n es por ejemplo un número del 1 al 50, preferentemente un número de 10-20. La medición repetida de la misma muestra aumenta la precisión de la determinación cuantitativa del analito.

40 En otra forma de ejecución del método, los pasos del método b)-d) se repiten al menos n-veces, y la determinación del analito en el paso e) tiene lugar mediante la modificación de respectivamente una señal de intensidad de la luz proveniente de los n+1 intervalos I a lo largo del tiempo o mediante la modificación de un valor medio de varias señales de intensidad de la luz proveniente de los n+1 intervalos I de las señales de intensidad de la luz registradas a lo largo del tiempo. n es por ejemplo un número de 1 a 1000. Esto posibilita el registro de una cinética de la reacción, cuyos parámetros, como por ejemplo inclinación máxima, superficie debajo de la curva, etc., pueden emplearse para la determinación cuantitativa del analito.

45 Como una "muestra" se entiende una composición que supuestamente contiene los analitos que deben ser determinados. Las muestras usuales del diagnóstico in vitro se componen o contienen al menos sangre, plasma, suero, orina, saliva, líquido cefalorraquídeo, secreción del oído, secreción nasal u otros fluidos corporales o muestras de tejido corporal o células alojadas en un líquido. El término "muestra" comprende en particular también

cargas de reacción, es decir, mezclas de la muestra propiamente dicha con uno o con varios reactivos, por ejemplo partículas de látex recubiertas con anticuerpos, en donde la cantidad o la actividad del analito pueden determinarse mediante una modificación de una propiedad óptica.

5 Otro objeto de la presente invención consiste en un sistema nefelométrico con al menos una unidad óptica, al menos una fuente de luz para emitir un haz luminoso, al menos una posición de alojamiento para una célula de medición, un diafragma para bloquear la parte no dispersada del haz luminoso después de atravesar una célula de medición dispuesta en la posición de alojamiento y un fotodetector para recibir partes dispersadas del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, y donde la fuente de luz, el diafragma y el fotodetector, por una parte, y la posición de alojamiento, por otra parte, pueden desplazarse relativamente unos con respecto a otros. Además, un sistema nefelométrico de acuerdo con la invención presenta un controlador que controla un método con los
10 siguientes pasos del método:

i. desplazamiento de la célula de medición y/o desplazamiento de la unidad óptica, de manera que el haz luminoso emitido por la fuente de luz atraviesa un trayecto;

15 ii. registro de las señales de intensidad de la luz recibidas por el fotodetector sobre el trayecto, en donde el haz luminoso emitido por la fuente de luz atraviesa la célula de medición;

iii. determinación de la ubicación de un intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas, el cual contiene exclusivamente señales de intensidad de la luz que resultan de la parte dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, donde la dimensión del intervalo I resulta de una cantidad definida de señales de intensidad de la luz y es un parámetro predeterminado para el sistema nefelométrico utilizado; y

20 iv. determinación de un analito mediante una señal de intensidad de la señal o a través de un valor medio de varias señales de intensidad de la luz provenientes del intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas, donde la ubicación del intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas se determina evaluando las señales de intensidad de la luz registradas sobre el trayecto, del siguiente modo:

25 - formación de la primera y de la segunda derivada de las señales de intensidad de la luz registradas sobre el trayecto;

- determinación de una primera posición F_f en el trayecto con las condiciones $f'(x) < 0$ y $f''(x) = 0$;

- determinación de una segunda posición F_s en el trayecto con las condiciones $f'(x) > 0$ y $f''(x) = 0$; y

- determinación de una tercera posición M en el trayecto a través de la fórmula $M = F_f + (F_s - F_f)/2$; y

- posicionamiento del intervalo I, de manera que la posición M forma el centro del intervalo I.

30 Una fuente de luz preferente presenta un diodo láser. Del mismo modo, puede preverse que la fuente de luz sea un diodo emisor de luz (LED), una bombilla, una lámpara de descarga de gas o una lámpara de arco eléctrico. De manera ventajosa, la fuente de luz emite luz en rangos de longitud de onda entre 200 nm y 1400 nm, preferentemente entre 300 y 1100 nm.

35 El detector de luz consiste preferentemente en un fotodiodo que transforma luz visible, en algunas ejecuciones también luz infrarroja o luz ultravioleta, a través del fotoefecto interno, en una corriente o una tensión eléctrica. Es proceso se denomina también como percepción de la señal, y la corriente o la tensión eléctrica se denominan también como señal de intensidad de la luz. De manera alternativa, el detector de luz consiste en un sensor CCD. Los sensores CCD se componen de una matriz o de una línea con fotodiodos sensibles a la luz. Igualmente puede preverse que el detector de luz se trate de una fotocélula, de un fotodetector de silicio, de un fotodetector de
40 avalancha o de un fotomultiplicador.

El diafragma para bloquear el haz primario, es decir, la parte no dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, está dispuesto de manera que absorbe el haz primario y/o la refleja.

En principio, la unidad óptica del sistema nefelométrico de acuerdo con la invención puede presentar además filtros, lentes, espejos u otros elementos ópticos.

45 Preferentemente, un sistema nefelométrico de acuerdo con la invención presenta al menos dos, preferentemente al menos 16, de forma especialmente preferente al menos 32 posiciones de alojamiento para respectivamente una célula de medición.

Además, de manera preferente, al menos dos posiciones de alojamiento para respectivamente una célula de medición están dispuestas en una ruta circular, y la fuente de luz, el diafragma y el fotoreceptor pueden desplazarse en una ruta circular, relativamente con respecto a las posiciones de alojamiento para respectivamente una célula de medición, o las posiciones de alojamiento para las células de medición pueden desplazarse en una ruta circular relativamente con respecto a la fuente de luz, al diafragma y al fotodetector.

Preferentemente, al menos una posición de alojamiento es adecuada para alojar una célula de medición con sección transversal oval o circular.

Otro objeto de la presente invención consiste en un dispositivo de análisis automático que contiene un sistema nefelométrico de acuerdo con la invención.

Un dispositivo de análisis automático preferente comprende además un recipiente para alojar una pluralidad de células de medición como material a granel, un dispositivo para separar las células de medición y un dispositivo para posicionar una célula de medición individual en al menos una posición de alojamiento de la unidad óptica del sistema nefelométrico. Con la ayuda de un dispositivo de análisis de esa clase es posible una ejecución completamente automática de determinaciones nefelométricas de analitos, en una pluralidad de muestras.

15 Descripción de las figuras

La figura 1 muestra esquemáticamente el desarrollo típico de una curva de la señal de la intensidad de la luz que fue registrada en un sistema nefelométrico, donde varias posiciones de alojamiento para respectivamente una célula de medición con diámetro circular se encuentran dispuestas de forma fija en un arco de círculo y donde la unidad óptica, es decir, la fuente de luz, el diafragma, y el fotodetector, se desplaza sobre una ruta circular a lo largo de las posiciones de alojamiento. La curva muestra la intensidad medida de la luz (eje X) en función del recorrido (eje Y), en donde el haz luminoso atraviesa una célula de medición. La curva se compone de 1.000 puntos de medición o señales de intensidad de la luz, las cuales fueron registradas en un único pasaje del haz luminoso de una de las células de medición con una muestra, a lo largo del trayecto. En el sistema descrito aquí a modo de ejemplo, la distancia entre dos puntos de medición asciende a $1,33 \mu\text{m}$, así como a $1,06 \mu\text{s}$. En la realidad, las curvas así obtenidas parecen poco ideales debido a interferencias, ruidos y asimetrías de la unidad mecánica, pero los datos brutos obtenidos pueden estar sujetos a una filtración común con respecto al suavizado de la curva. Puede observarse que la curva presenta un primer flanco descendente, una base de la curva y un segundo flanco ascendente. El área esencial para la determinación del analito se encuentra en el área de la base de la curva, donde es máximo el bloqueo del haz primario. Mediante el método de acuerdo con la invención se determinan el punto de inflexión Ff del flanco descendente y el punto de inflexión Fs del flanco ascendente. Después se busca el punto M que se ubica precisamente en el centro de los puntos Ff y Fs, y el intervalo I predeterminado para el sistema nefelométrico aquí utilizado (en este caso de una dimensión de 300 señales de intensidad de la luz/puntos de medición), el cual contiene exclusivamente señales de intensidad de la luz que resultan de la parte dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, se posiciona de manera que el punto M forma el centro de intervalo I. La evaluación de las señales de intensidad de la luz contenidas en el intervalo I posibilita una determinación precisa del analito.

REIVINDICACIONES

1. Método para la determinación nefelométrica de un analito en una muestra, donde la muestra se encuentra en una célula de medición, donde el método comprende los pasos:
- 5 a. colocación de la célula de medición en un sistema nefelométrico con al menos una unidad óptica, donde la unidad óptica comprende al menos una fuente de luz para emitir un haz luminoso, un diafragma para bloquear la parte no dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición y un fotodetector para recibir partes dispersadas del haz luminoso después de atravesar la célula de medición;
- b. desplazamiento de la célula de medición y/o desplazamiento de la unidad óptica, de manera que el haz luminoso emitido por la fuente de luz atraviesa un trayecto;
- 10 c. registro de las señales de intensidad de la luz recibidas por el fotodetector sobre el trayecto, en donde el haz luminoso emitido por la fuente de luz atraviesa la célula de medición;
- d. determinación de la ubicación de un intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas, el cual contiene exclusivamente señales de intensidad de la luz que resultan de la parte dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, donde la dimensión del intervalo I resulta de una cantidad definida de señales de intensidad de la luz y es un parámetro predeterminado para el sistema nefelométrico utilizado; y
- 15 e. determinación de un analito mediante una señal de intensidad de la señal o a través de un valor medio de varias señales de intensidad de la luz provenientes del intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas;
- caracterizado porque, la ubicación del intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas se determina evaluando las señales de intensidad de la luz registradas sobre el trayecto, del siguiente modo:
- 20 - formación de la primera y de la segunda derivada $f'(x)$ y $f''(x)$ de las señales de intensidad de la luz registradas sobre el trayecto;
- determinación de una primera posición F_f en el trayecto con las condiciones $f'(x) < 0$ y $f''(x) = 0$;
- determinación de una segunda posición F_s en el trayecto con las condiciones $f'(x) > 0$ y $f''(x) = 0$; y
- determinación de una tercera posición M en el trayecto a través de la fórmula $M = F_f + (F_s - F_f)/2$; y
- 25 - posicionamiento del intervalo I, de manera que la posición M forma el centro del intervalo I.
2. Método según la reivindicación 1, donde los pasos del método b)-d) se repiten n-veces y donde la determinación del analito en el paso e) tiene lugar mediante el valor medio respectivamente de una señal de intensidad de la luz proveniente de los n+1 intervalos I o mediante un valor medio proveniente de los n+1 valores medios de varias señales de intensidad de la luz provenientes de los n+1 intervalos I de las señales de intensidad de la luz registradas.
- 30 3. Método según la reivindicación 1, donde los pasos del método b)-d) se repiten n-veces y donde la determinación del analito en el paso e) tiene lugar mediante la modificación respectivamente de una señal de intensidad de la luz proveniente de los n+1 intervalos I o mediante la modificación de un valor de varias señales de intensidad de la luz provenientes de los n+1 intervalos I de las señales de intensidad de la luz registradas a lo largo del tiempo.
- 35 4. Sistema nefelométrico con al menos una unidad óptica, donde la unidad óptica comprende al menos una fuente de luz para emitir un haz luminoso, al menos una posición de alojamiento para una célula de medición, un diafragma para bloquear la parte no dispersada del haz luminoso después de atravesar una célula de medición dispuesta en la posición de alojamiento y un fotodetector para recibir partes dispersadas del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, donde la fuente de luz, el diafragma y el fotodetector, por una parte, y la posición de alojamiento, por otra parte, pueden desplazarse relativamente unos con respecto a otros, caracterizado porque el sistema nefelométrico presenta además un controlador que controla un método con los siguientes pasos del método:
- 40 i. desplazamiento de la célula de medición y/o desplazamiento de la unidad óptica, de manera que el haz luminoso emitido por la fuente de luz atraviesa un trayecto;
- ii. registro de las señales de intensidad de la luz recibidas por el fotodetector sobre el trayecto, en donde el haz luminoso emitido por la fuente de luz atraviesa la célula de medición;
- 45

- iii. determinación de la ubicación de un intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas, el cual contiene exclusivamente señales de intensidad de la luz que resultan de la parte dispersada del haz luminoso después de atravesar la célula de medición, donde la dimensión del intervalo I resulta de una cantidad definida de señales de intensidad de la luz y es un parámetro predeterminado para el sistema nefelométrico utilizado; y
- 5 iv. determinación de un analito mediante una señal de intensidad de la señal o a través de un valor medio de varias señales de intensidad de la luz provenientes del intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas, donde la ubicación del intervalo I de las señales de intensidad de la luz registradas se determina evaluando las señales de intensidad de la luz registradas sobre el trayecto, del siguiente modo:
- 10 - formación de la primera y de la segunda derivada $f'(x)$ y $f''(x)$ de las señales de intensidad de la luz registradas sobre el trayecto;
- determinación de una primera posición F_f en el trayecto con las condiciones $f'(x) < 0$ y $f''(x) = 0$;
- determinación de una segunda posición F_s en el trayecto con las condiciones $f'(x) > 0$ y $f''(x) = 0$; y
- determinación de una tercera posición M en el trayecto a través de la fórmula $M = F_f + (F_s - F_f)/2$; y
- posicionamiento del intervalo I, de manera que la posición M forma el centro del intervalo I.
- 15 5. Sistema nefelométrico según la reivindicación 4, con al menos dos, preferentemente con al menos 16, de forma especialmente preferente con al menos 32 posiciones de alojamiento para respectivamente una célula de medición.
6. Sistema nefelométrico según la reivindicación 5, donde al menos dos posiciones de alojamiento para respectivamente una célula de medición están dispuestas en una ruta circular.
- 20 7. Sistema nefelométrico según una de las reivindicaciones 4 a 6, donde la fuente de luz, el diafragma y el fotodetector pueden desplazarse en una ruta circular de forma relativa con respecto a por lo menos una posición de alojamiento para una célula de medición.
8. Sistema nefelométrico según una de las reivindicaciones 4 a 6, donde al menos una posición de alojamiento para una célula de medición puede desplazarse de forma relativa con respecto a la fuente de luz, al diafragma y al fotodetector.
- 25 9. Sistema nefelométrico según una de las reivindicaciones 4 a 8, donde al menos una posición de alojamiento es adecuada para alojar una célula de medición con sección transversal oval o circular.
10. Dispositivo de análisis automático, el cual contiene un sistema nefelométrico según una de las reivindicaciones 4 a 9.
- 30 11. Dispositivo de análisis automático según la reivindicación 10, el cual comprende además un recipiente para alojar una pluralidad de células de medición como material a granel, un dispositivo para separar las células de medición y un dispositivo para posicionar una célula de medición individual en al menos una posición de alojamiento de la unidad óptica del sistema nefelométrico.

