

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 788**

51 Int. Cl.:

G01N 21/27 (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)
G01N 35/10 (2006.01)
G01N 21/59 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.07.2005 PCT/JP2005/013767**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.02.2006 WO06011531**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2005 E 05767461 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.03.2018 EP 1775574**

54 Título: **Procedimiento de determinación automática de una muestra**

30 Prioridad:

27.07.2004 JP 2004218142

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

27.04.2018

73 Titular/es:

**LSI MEDIENCE CORPORATION (100.0%)
 13-4, Uchikanda 1-chome, Chiyoda-ku
 Tokyo 101-8517, JP**

72 Inventor/es:

**KOYATA, ATSUSHI y
 YOKOI, HIROYUKI**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 665 788 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 determinación automática de una muestra

Campo de la técnica

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para una determinación automática de un tipo de muestra, en un procedimiento para el análisis de la muestra, es decir, un procedimiento para el análisis de un componente específico contenido en la muestra tal como fluidos corporales, particularmente sangre.

Técnica antecedente

10 Es clínicamente importante medir un componente específico de la sangre, por ejemplo, antígenos, anticuerpos, proteínas o endocrinos. Se utiliza comúnmente un suero o plasma como muestra de sangre y, en este caso, el suero o plasma se separa en general de la sangre entera lo más rápidamente posible para evitar la hemólisis. Esto es porque cuando las células sanguíneas están contenidas en una muestra, o se produce hemólisis, por ejemplo, en un inmunoensayo, existe la posibilidad de que se produzcan efectos de la hemólisis en un sistema óptico, una inhibición de una inmunorreacción por componentes internos de las células sanguíneas, una agregación de vehículos insolubles utilizados como fase sólida producida por un componente de membrana de las células sanguíneas, o una interferencia en la adsorción o similares. Por lo tanto, es un procedimiento convencional en los ensayos clínicos de laboratorio en general retirar las células sanguíneas de la sangre completa recolectada por centrifugación y utilizar el suero o plasma resultante como la muestra a ensayar.

15 Sin embargo, como es necesario dedicar un dispositivo tal como una centrífuga para retirar las células sanguíneas, y el procedimiento necesita tiempo y esfuerzo, es preferible utilizar sangre completa como muestra sin pretratamiento, para un facultativo que no tenga dicho dispositivo o en un ensayo de emergencia inaplazable, y se han propuesto distintos procedimientos.

20 Por ejemplo, la Publicación de Patente Japonesa sin examinar (Kokai) N.º 10-48214 (referencia de patente 1) desvela un procedimiento para la utilización de sangre completamente hemolizada sonicando la sangre completa o mezclando sangre completa con una solución hipotónica. La Publicación de Patente Japonesa sin examinar (Kokai) N.º 6-265554 (referencia de patente 2) desvela un procedimiento de análisis de un componente bioquímico de sangre, que comprende las etapas de determinación de si una muestra contiene células sanguíneas o no; cuando se obtiene el resultado de que la muestra contiene células sanguíneas, determinar si se seleccionan o no solo uno o más artículos medibles que se puedan analizar utilizando una muestra que contiene células sanguíneas; y cuando se obtiene el resultado de que se seleccionan solo los artículos medibles que se pueden analizar utilizando una muestra que contienen células sanguíneas, se agita la muestra y se mide la muestra agitada.

25 Sin embargo, el procedimiento para hemolizar completamente la sangre completa desvelada en la referencia de patente 1 anterior tiene varios problemas, por ejemplo, distintos estados de hemólisis. Además, las interferencias que fluyen desde el interior de las células sanguíneas al sistema de reacción, tal como la hemoglobina o sustancias derivadas del núcleo celular, a veces afectan gravemente la medición produciendo una reacción no específica, o, particularmente en un ensayo inmunológico, una interferencia de la inmunorreacción.

30 Con respecto al procedimiento de análisis de un componente bioquímico de la sangre desvelada en la referencia de patente 2 anterior, no se desvela completamente un procedimiento de determinación del tipo de muestra (es decir, si la muestra contiene o no células sanguíneas). La referencia de patente 2 solamente desvela que se puede localizar un medio para determinar el tipo de muestra, tal como un sensor de transmisión óptica, encima de cubetas que encapsulan un reactivo, una muestra, un diluyente, o similares. Además, no se desvela un procedimiento concreto ni el criterio para la determinación en la referencia de patente 2, excepto para la divulgación en la que, cuando una muestra contiene células sanguíneas, se debería llevar a cabo una compensación del hematocrito agitando la muestra.

35 Se desvelan procedimientos y aparatos adicionales relacionados con la técnica anterior en los documentos EP 1 054 250 y US 4.252.536.

[referencia de patente 1] Publicación de Patente Japonesa sin examinar (Kokai) N.º 10-48214

[referencia de patente 2] Publicación de Patente Japonesa sin examinar (Kokai) N.º 6-265554

Divulgación de la invención**Problemas que resolver por la invención**

40 Un objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento capaz de determinar automáticamente el tipo de muestra, en un analizador automático de propósito general no solo para un suero o plasma sino también para sangre completa, sin una etapa en el que la persona que hace la medición meta o fije el tipo de muestra en el analizador antes de la medición. Otro objeto es proporcionar un procedimiento capaz de detectar el fallo de aplicar una muestra en el analizador, simultáneamente con la determinación del tipo de muestra. Otro objeto más es

proporcionar un procedimiento capaz de detectar simultáneamente un fallo de montaje de una punta de dispensación en un analizador automático en el que se montan las puntas de dispensación.

Medios para resolver los problemas

5 Estos objetos pueden resolverse mediante la presente invención, es decir, un procedimiento de determinación de un tipo de una muestra de una sustancia que se va a analizar, de acuerdo con la reivindicación 1.

De acuerdo con una realización del procedimiento de la presente invención, el medio de suministro es un medio de dispensación en el que se puede montar una punta (preferentemente, montada de manera retirable) y se puede aspirar y verter líquido por medio de la punta.

10 De acuerdo con otra realización preferida del procedimiento de la presente invención, el medio de suministro es un tubo o un canal.

la presente invención se refiere a un aparato para el análisis de una sustancia de acuerdo con la reivindicación 4.

El medio de determinación puede comprender, por ejemplo,

- 15 un medio para almacenar un valor de umbral obtenido a partir de un valor medido previamente,
- un medio para comparar un valor medido secundario con el valor de umbral almacenado,
- un medio para indicar un procedimiento posterior (o una advertencia) de acuerdo con el resultado de comparación, y
- un medio para expresar el resultado de la comparación (un medio de advertencia).

20 De acuerdo con una realización preferida del aparato de la presente invención, el medio de suministro es un medio de dispensación en el que se puede montar una punta (preferentemente, una punta retirable) y se puede aspirar y verter líquido por medio del a punta.

De acuerdo con una realización preferida del aparato de la presente invención, el medio de suministro es un tubo o un canal.

Efectos de la invención

25 De acuerdo con la presente invención, el tipo de muestra se puede determinar automáticamente, y se puede saltar una etapa en la que la persona que hace la medición meta o fije el tipo de muestra en un analizador antes de la medición. Por lo tanto, la presente invención es útil, particularmente, para el operador general que no tenga un dispositivo dedicado tal como una centrifuga o para un ensayo de emergencia inaplazable. Además, de acuerdo con la presente invención, se puede detectar un fallo de aplicación de una muestra, así como la determinación del tipo de la muestra. Además, de acuerdo con la presente invención, se puede detectar simultáneamente un fallo en el montaje de la punta de dispensación en un analizador automático en el que se montan puntas de dispensación.

30

Breve descripción de los dibujos

[Fig. 1] La Fig. 1 es una vista frontal (A) y una vista lateral (B) que ilustra esquemáticamente una realización de un analizador automático en el que se puede aplicar el procedimiento de determinación de la presente invención.

35 [Fig. 2] La Fig. 2 ilustra esquemáticamente procedimientos de una realización de un procedimiento de análisis automático al que se puede aplicar el procedimiento de determinación de la presente invención.

[Fig. 3] La Fig. 3 ilustra esquemáticamente una realización de un sistema de análisis óptico que se puede utilizar en la presente invención.

40 [Fig. 4] la Fig. 4 es una vista frontal parcial aumentada (A) y una vista lateral parcial aumentada (B) que ilustra esquemáticamente un estado en el que se incorpora en un analizador automático una realización de un sistema de análisis óptico que se puede utilizar en la presente invención.

Explicación de los signos de referencia en los dibujos

- 1...analizador automático; 2...mesa de medición; 3...cartucho; 4...punta; 5...boquilla;
- 11...diodo emisor de luz; 12...fotodiodo;
- 13...amplificador operacional para la transformación del voltaje de la corriente; 14... convertidor AD.

45 **Mejor modo de llevar a cabo la invención**

El procedimiento de determinación de la presente invención se puede aplicar a un procedimiento para el análisis automático de una muestra, tal como fluidos corporales, particularmente sangre, a condición de que el procedimiento de análisis automático comprenda una etapa de suministro de una muestra a un sistema de reacción. Como un procedimiento de análisis automático, se puede mencionar, por ejemplo, un procedimiento de análisis automático que comprende una etapa de suministro (por ejemplo, dispensación) de una muestra a un sistema de reacción por un medio de dispensación en el que se puede montar una punta y se puede aspirar y verter un líquido por medio de la punta, o un procedimiento de análisis automático que comprende una etapa de suministro de una muestra a un

50

sistema de reacción por un medio de transferencia (por ejemplo, un tubo o un canal) capaz de aspirarla muestra por un extremo del mismo y transferir la muestra por el otro extremo del mismo. Además, el aparato de análisis de la presente invención se puede aplicar a un analizador automático equipado con un medio para suministrar una muestra a un sistema de reacción. Como analizador automático, se puede mencionar, por ejemplo, un analizador

5 equipado con un medio de dispensación en el que se monta una punta y se puede aspirar y verter un líquido por medio de la punta, o un analizador equipado con un medio de transferencia (por ejemplo, un tubo o un canal) capaz de aspirar la muestra por un extremo del mismo y transferir la muestra por el otro extremo del mismo.

Una realización de un procedimiento de análisis automático y un analizador automático al que se puede aplicar el procedimiento de la presente invención se explicará en referencia a las Fig. 1 y 2.

10 El analizador automático 1 que se muestra en la Fig. 1 comprende una mesa de medición 2 sobre la que se colocan uno o más cartuchos 3 que tienen varios pocillos para muestras y/o reactivos para la detección. Una línea de varias boquillas 5, en las que se pueden montar puntas 4 y se puede aspirar y verter un líquido por medio de las puntas 4, se colocan sobre la tabla de medición. Las boquillas 4 se pueden mover arriba y abajo en una dirección vertical. Cuando el extremo inferior de la punta 4 se localiza en la posición más baja, se puede llevar a cabo una aspiración del líquido de los pocillos del cartucho 3, vertido del líquido a los pocillos del mismo, mezcla del líquido en los pocillos por aspiración e inyección repetida, o similar. Además, los pocillos de interés se pueden colocar directamente debajo de las boquillas moviendo la mesa de medición 2 en dirección horizontal. Si se desea se pueden posicionar uno o más imanes (no mostrados en la Fig. 1) capaces de ponerse en contacto con las paredes laterales externas de las puntas 4. En este caso, se pueden utilizar partículas magnéticas como un reactivo para la

15 detección, tal como partículas magnéticas revestidas con un anticuerpo específico para el compuesto que se va a analizar, junto con los imanes para llevar a cabo una separación B/F en las puntas.

Como medio de suministro de una muestra a un sistema de reacción se puede utilizar un medio de aspiración/inyección en el que una parte de punta se integra con una parte de boquilla, y un medio de transferencia capaz de aspirar una muestra desde un extremo del mismo y transferir la muestra por el otro extremo del mismo, o similar, en vez de las boquillas con puntas se puede montar como se muestra en la Fig. 1. Como medio de transferencia, hay que mencionar, por ejemplo, un tubo tal como un tubo flexible o tubo capilar o un canal. De aquí en adelante, la presente invención se explicará adicionalmente en referencia a las realizaciones equipadas con los medios de dispensación en los que se puede montar una punta y el líquido se puede aspirar y verter mediante la punta, pero es por medios que no se limitan a estas realizaciones.

25

30 Una realización de un procedimiento de análisis automático utilizando el analizador automático que se muestra en la Fig. 1 se muestra en la Fig. 2. En el procedimiento de análisis automático que se muestra en la Fig. 2, se utilizan partículas magnéticas revestidas con el primer anticuerpo, el segundo anticuerpo marcado con una enzima, y un sustrato de luminiscencia como reactivos para la detección, junto con imanes capaces de ponerse en contacto con las paredes externas de las puntas, para llevar a cabo una separación B/F en las puntas.

35 En la primera etapa [(a) primera reacción], se añade una cantidad predeterminada de una muestra, mediante una punta, en el primer pocillo en el que se había dispensado previamente una cantidad predeterminada de partículas magnéticas revestidas de anticuerpo, la muestra y las partículas magnéticas revestidas de anticuerpo se mezclan apropiadamente pipeteando, y se incuba la mezcla. Después de que la reacción antígeno-anticuerpo progresa suficientemente, se aspira el líquido de reacción en la punta, y el líquido de reacción se vierte mientras se capturan las partículas magnéticas en la pared interna de la punta con un imán.

40

En la segunda etapa [(b) lavado], la punta se inserta en el segundo pocillo en el que se había dispensado previamente una cantidad predeterminada de solución de lavado, y las partículas magnéticas capturadas con el imán se lavan pipeteando la solución de lavado.

45 En la tercera etapa [(c) segunda reacción], la punta se inserta en el tercer pocillo en el que se había dispensado previamente una cantidad predeterminada de una solución de anticuerpo marcado con una enzima, las partículas magnéticas y la solución se mezclan apropiadamente pipeteando la solución de anticuerpo marcado y la mezcla se incuba. Después de que la reacción antígeno-anticuerpo progresa suficientemente, se aspira el líquido de reacción en la punta, y el líquido de reacción se vierte mientras se capturan las partículas magnéticas en la pared interior de la punta con el imán.

50 En la cuarta etapa [(d) lavado], la punta se inserta en el cuarto pocillo en el que se había dispensado previamente una solución de lavado, y las partículas magnéticas capturadas con el imán se lavan pipeteando la solución de lavado.

55 En la quinta etapa [(e) reacción de luminiscencia], la punta se inserta en el quinto pocillo en el que se había dispensado previamente una cantidad predeterminada de solución de sustrato de luminiscencia, y se lleva a cabo la reacción de luminiscencia pipeteando la solución de sustrato. Después de llevar a cabo la reacción durante un tiempo predeterminado, se puede medir una cantidad de luminiscencia para determinar una cantidad o concentración de una sustancia que se va a analizar.

La muestra que se va a analizar que se utiliza en la presente invención es sangre completa, suero o plasma.

Una sustancia que se va a analizar contenida en la muestra no se limita particularmente, a condición de que se pueda seleccionar la sustancia que se une específicamente con el analito para formar un producto de reacción. Como la combinación del analito y la sustancia específica del mismo, se pueden mencionar, por ejemplo, un antígeno y un anticuerpo, un anticuerpo y un antígeno, una proteína y un ligando, o una cadena de azúcar y una lectina, preferentemente un antígeno y anticuerpo, o un anticuerpo y un antígeno. La expresión “para unirse específicamente” que se utiliza en el presente documento significa formar un producto de reacción uniendo bioquímica y específicamente con un sujeto. como sustancia a analizar, se puede mencionar, por ejemplo, el antígeno de superficie el virus de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpo y antígeno de virus de la hepatitis C (VHC), anticuerpo del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), anticuerpo del virus -1 de leucemia de células T humana (HTLV-1), o anticuerpo de *Treponema pallidum* (TP). Además, se pueden utilizar marcadores miocárdicos [por ejemplo, creatinina cinasa MB (CKMB), mioglobina, o troponina], hormonas, proteínas séricas, o similares.

Un sistema de reacción para la medición de una muestra no se limita particularmente. Por ejemplo, se puede utilizar preferentemente un inmunoensayo basado en una reacción antígeno-anticuerpo.

La determinación en la presente invención se basa en una técnica óptica. En la presente invención se aspira una muestra en una punta, y una parte en la que la muestra se mantiene irradiada con luz. La intensidad óptica se puede analizar para determinar si se ha montado la punta o no, si existe muestra en la punta o no, y/o el tipo de muestra.

Más particularmente, con respecto a la punta para la aspiración de la muestra, una parte en que la muestra se mantiene se irradia con luz, preferentemente antes de la aspiración y después de la aspiración, y se puede detectar un cambio óptico, por ejemplo, en la transmisión, reflexión o dispersión con un dispositivo bien conocido tal como un fotodetector para determinar si se ha montado la punta o no, si existe muestra no o en la punta, y/o el tipo de muestra.

Cuando se utiliza un tubo o un canal que comprende una región transparente compuesta por un material transparente como medio de suministro, la región transparente se irradia con luz, y se puede analizar una intensidad óptica, que varía de acuerdo con la presencia o ausencia de la muestra y/o el tipo de muestra transferida en el tubo o el canal, para determinar la presencia o ausencia de la muestra y/o el tipo de muestra.

Como se muestra en los datos experimentales de los Ejemplos 1 y 2 descritos posteriormente, la cantidad de luz transmitida cuando la punta no se ha montado (a lo que se hace referencia de aquí en adelante como el caso de punta sin montar) es mayor que cuando la punta está montada y cuando no hay muestra aspirada en la punta (a lo que se hace referencia de aquí en adelante como caso de punta montada), y por lo tanto, es posible determinar si una punta está montada o no midiendo la cantidad de luz transmitida.

Además, aunque se transmite poca luz cuando se aspira sangre completa en la punta (a lo que se hace referencia de aquí en adelante como caso de tenencia de sangre completa), una cantidad de luz transmitida en el caso de tenencia de sangre completa se convierte en menor que en el caso de punta montada. Por el contrario, la cantidad de luz transmitida cuando ese aspira plasma o suero en la punta (a lo que se hace referencia de aquí en adelante como caso de tenencia de suero o plasma) es mayor que en el caso de punta montada, debido al efecto lente producido por la punta, pero no excede la del caso de punta sin montar.

Estos casos se pueden disponer en orden de cantidad descendente de luz transmitida de la siguiente manera:

caso de punta sin montar > caso de tenencia de plasma o suero > caso de punta montada > caso de tenencia de sangre completa

Por lo tanto, es posible determinar si la punta está montada o no, si existe una muestra en la punta o no, y/o el tipo de muestra, utilizando una cantidad de luz transmitida con índice. En el caso de punta no montada, se puede detectar una operación inadecuada, tal como un fallo en la preparación de puntas, un fallo en el montaje de una punta, o similares. En el caso de punta montada, se puede detectar una operación inadecuada, tal como un fallo en la preparación de muestras, un fallo en la configuración de una o más muestras, o similares. Cada umbral puede variar de acuerdo con las condiciones, tal como el tipo de sistema de análisis óptico, propiedades (por ejemplo, materiales, calidad de los materiales, forma, o tamaño) de una punta o similares, y por lo tanto no está particularmente limitado. Los expertos en la técnica determinan fácilmente cada umbral sin experimentación excesiva llevando a cabo un ensayo piloto, por ejemplo, midiendo cantidades de luz transmitida en estos casos de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1 a 2.

Con respecto a los tres casos en los que una muestra es (1) sangre completa, (2) plasma o suero, y (3) una operación inadecuada (por ejemplo, un fallo en la configuración de una o más muestras), posteriormente se explicará una realización de una lógica para la determinación.

Primero, se lleva a cabo un ensayo piloto que utiliza sangre completa plural y plasma y/o sueros para medir las cantidades de luz transmitida cuando se aspira una muestra en la punta (es decir, una cantidad de luz transmitida en el caso de tenencia de sangre completa, y una cantidad de luz transmitida en el caso de tenencia de plasma o suero). Además, se mide la cantidad de luz transmitida (T0) en el caso de punta montada (es decir, cuando no hay muestra aspirada en la punta). Como se ha descrito anteriormente, el orden de cantidad de luz transmitida es la

siguiente: caso de tenencia de plasma o suero > caso de punta montada > caso de tenencia de sangre completa.

Basándose en la medición de estos valores, se determinan por adelantado un umbral entre el caso de tenencia de plasma o suero y el caso de punta montada (al que se hace referencia de aquí en adelante como umbral a) y un umbral entre el caso de punta montada y el caso de tenencia de sangre completa (al que se hace referencia de aquí en adelante como umbral b).

A continuación, para determinar una muestra desconocida, la punta se irradia con luz para medir una cantidad de luz transmitida (T). Cuando la cantidad de luz transmitida T de la muestra desconocida es mayor que un umbral a, es posible determinar que es el caso de tenencia de plasma o suero, es decir, que la muestra desconocida es plasma o suero. Cuando la cantidad de luz transmitida de la muestra desconocida es menor que el umbral b, es posible determinar que es el caso de tenencia de sangre completa, es decir, que la muestra desconocida es sangre completa. Cuando la cantidad de luz transmitida T de la muestra desconocida esta entre el umbral a y el umbral b, es posible determinar que hay una operación inadecuada.

La lógica anterior para la determinación (a lo que se hace referencia a veces de aquí en adelante como procedimiento de una etapa) que se utiliza en la presente invención comprende las etapas de:

- (A) comparar una intensidad óptica (por ejemplo, una cantidad de luz transmitida) medida en una etapa de suministro (cuando se va a determinar si una muestra se ha aspirado en un medio de suministro tal como una punta) con el umbral a determinado previamente (es decir, el umbral entre una intensidad óptica cuando se aspira plasma o suero en el medio de suministro y una intensidad óptica cuando no se aspira muestra en el medio de suministro) y el umbral b determinado previamente (es decir, el umbral entre una intensidad óptica cuando no se ha aspirado muestra en el medio de suministro y una intensidad óptica cuando se aspira sangre completa en el medio de suministro); y
- (B) determinar que cuando la intensidad óptica de la muestra es mayor que el umbral a, la muestra es plasma o suero; cuando la intensidad óptica de la misma es menor que el umbral b, la muestra es sangre completa; y cuando la intensidad óptica de la misma está entre el umbral a y el umbral b, no se ha aspirado muestra en el medio de suministro (por ejemplo, una operación adecuada).

De acuerdo con la presente invención, incluso si una muestra es una muestra hemolítica o una muestra con quilo habitual (es decir, una muestra blanquecina y opaca que tiene un alto contenido lipídico), plasma o suero se puede discriminar claramente de la sangre completa, como se muestra en los datos experimentales descritos en el Ejemplo 2. En conexión con esto, cuando se utiliza una muestra de plasma o suero con quilo que tiene un contenido lipídico extremadamente alto, a veces es difícil discriminar la muestra de la sangre completa. Por ejemplo, cuando se utiliza una muestra con quilo que tiene un contenido lipídico extremadamente alto, la cantidad de luz transmitida tiene a veces un valor entre el umbral a y el umbral b (es decir, se juzgaría como una operación inadecuada) o más pequeño que el umbral b (es decir, se juzgaría como sangre completa) en la lógica para la determinación mencionada anteriormente. En dicho caso, cuando las muestras a analizar incluyen (o se sospecha que incluyen) una o más muestras de quilo que tienen un contenido lipídico extremadamente alto, se puede discriminar una muestra de plasma o suero con quilo de la sangre completa diluyendo la muestra hasta, por ejemplo, 1,2 veces a 10 veces, preferentemente 1,5 veces a 5 veces, más particularmente 2 veces, y midiendo de nuevo la cantidad de luz transmitida de la muestra(s) diluida. Es decir, cuando la muestra es sangre completa, hay poco cambio entre los valores medidos antes de la dilución y después de la dilución, y cuando la muestra es plasma o suero con quilo, el valor medido después de la dilución está aumentado, y, por lo tanto, se puede discriminar una muestra de plasma o suero con quilo de la sangre completa.

Más particularmente, cuando la cantidad de luz transmitida T de una muestra desconocida (en forma sin diluir) es menor que el umbral b (en que una muestra habitual se juzga como sangre completa) en la lógica para determinación mencionada anteriormente, la muestra se diluye, y la cantidad de luz de la muestra diluida (a la que se hace referencia a partir de aquí como la cantidad de luz transmitida T') se mide de nuevo en las mismas condiciones. En este caso, cuando la muestra desconocida es una muestra de plasma o suero con quilo, la cantidad de luz transmitida media después de la dilución está aumentada. Por el contrario, cuando la muestra es sangre completa, hay un pequeño cambio entre los valores medidos antes de la dilución y después de la dilución. Por lo tanto, dicha muestra desconocida se puede discriminar determinando previamente un umbral c, con respecto a la diferencia (T'-T) entre la cantidad de luz transmitida después de la dilución (T') y la de antes de la dilución (T). Es decir, cuando la diferencia "T'-T" es mayor que el umbral c, la muestra desconocida puede juzgarse como una muestra de plasma o suero con quilo, y cuando la diferencia "T'-T" es mayor que el umbral c, la muestra desconocida puede juzgarse como sangre completa.

De manera similar, cuando la cantidad de luz transmitida T de una muestra desconocida (en forma diluida) está entre el umbral a y el umbral b (en el que una muestra habitual se juzga como cuando no se ha aspirado muestra en la punta) en la lógica para la determinación que se ha mencionado anteriormente, la muestra desconocida se diluye, y la cantidad de luz transmitida T' se mide de nuevo en las mismas condiciones. Cuando la muestra desconocida es una muestra de plasma o suero con quilo, la cantidad de luz transmitida medida después de la dilución está aumentada. Por el contrario, cuando no se ha aspirado muestra en la punta, hay un pequeño cambio entre los valores medidos antes de la dilución y después de la dilución. Por lo tanto, dicha muestra desconocida se puede

discriminar determinando previamente un umbral d, con respecto a la diferencia (T'-T) entre la cantidad de luz transmitida después de la dilución (T') y la de antes de la dilución (T). Es decir, cuando la diferencia "T'-T" es mayor que el umbral d, la muestra desconocida se puede juzgar como una muestra de plasma o suero con quilo, y cuando la diferencia "T'-T" no es mayor que el umbral d, se puede juzgar que no se ha aspirado muestra en una punta.

5 Como anteriormente, otra lógica de determinación (a la que se hace referencia a veces de aquí en adelante como el procedimiento de dos etapas) que se utiliza en la presente invención comprende las etapas de:

- (A) comparar una intensidad óptica (por ejemplo, la cantidad de luz transmitida) T medida en una etapa de suministro (cuando la muestra que se va a determinar se aspira en un medio de suministro tal como una punta) con el umbral a determinado anteriormente (es decir, el umbral entre la intensidad óptica cuando se aspira plasma o suero en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando no se ha aspirado muestra en el medio de suministro) y el umbral b determinado previamente (es decir, el umbral entre la intensidad óptica cuando no se ha aspirado muestra en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando se ha aspirado sangre completa en el medio de suministro);
- (B') determinar que, cuando la intensidad óptica de la muestra es mayor que el umbral a, la muestra se juzga como plasma o suero; cuando la intensidad óptica de la misma es menor que el umbral b, la siguiente etapa (C) se lleva a cabo; y cuando la intensidad óptica de la misma está entre el umbral a y el umbral b, se lleva a cabo la siguiente etapa (D);
- (C) diluir la muestra, y comparar la diferencia (T'-T) entre la intensidad óptica T' medida en las mismas condiciones y la intensidad óptica T, con el umbral c determinado previamente (es decir, un umbral entre la diferencia "T'-T" cuando la muestra es una muestra de plasma o suero con quilo y la diferencia "T'-T" cuando una muestra es sangre completa), para determinar que, cuando la "T'-T" es mayor que el umbral c, la muestra se juzga como una muestra de plasma o suero con quilo, y cuando la diferencia "T'-T" no es más del umbral c, la muestra desconocida se juzga como sangre completa; y
- (D) diluir la muestra, y comparar la diferencia (T'-T) entre la intensidad óptica T' medida en las mismas condiciones y la intensidad óptica T, con el umbral d determinado previamente (es decir, un umbral entre la diferencia "T'-T" cuando la muestra es una muestra de plasma o suero con quilo y la diferencia "T'-T" cuando no se ha aspirado muestra en el medio de suministro), para determinar que, cuando la diferencia es mayor que el umbral d, la muestra se juzga como una muestra de plasma o suero con quilo, y cuando la diferencia "T'-T" no es mayor que el umbral d, se juzga que no se ha aspirado muestra en el medio de suministro (por ejemplo, una operación inadecuada).

La lógica para la determinación en el procedimiento de dos etapas se muestra en la Tabla 1.

[Tabla 1]

Etapa B'	$T < b$		$b \leq T \leq a$		$a < T$
	a Etapa C		a Etapa D		P/S
Etapa C	$\frac{\Delta T \leq c}{WB}$	$\frac{c < \Delta T}{P/S}$			
Etapa D			$\frac{\Delta T \leq d}{IO}$	$\frac{d < \Delta T}{P/S}$	
WB: sangre completa					
P/S: plasma o suero					
IO: operación inadecuada					

En la presente invención, el procedimiento de una etapa o el procedimiento de dos etapas se puede seleccionar apropiadamente y llevarse a cabo de acuerdo con el estado de las muestras (un conjunto de muestras) que se va a analizar. Por ejemplo, cuando las muestras que se van a analizar no incluyen una muestra con quilo que tenga un contenido lipídico extremadamente alto, es preferible el procedimiento de una etapa. Una muestra con quilo se puede identificar, por ejemplo, por una comprobación visual. De acuerdo con el procedimiento de una etapa, se puede llevar a cabo un análisis conveniente y rápido, debido a que el juicio se hace en una etapa. Cuando las muestras que se van a analizar incluyen (o son sospechosas de incluir) una o más muestras con quilo que tiene un contenido lipídico extremadamente alta, es preferible el procedimiento en dos etapas. De acuerdo con el procedimiento en dos etapas, se puede llevar a cabo un análisis más preciso, y no es necesaria una comprobación visual. El efecto del quilo (contenido lipídico en las muestras) se examinó utilizando Intrafat (al 20 %, Takeda Chemical Industries, Ltd.)y, como resultado, el tipo de muestras que tiene un contenido lipídico de 300 mg/dl o menos se podría determinar por el procedimiento en una etapa de la presente invención. Adicionalmente, con respecto a las muestras que tengan un contenido lipídico de más de 300 mg/dl, se confirmó que el tipo de muestras que tiene un contenido lipídico de 1500 mg/dl o menos se podría determinar (particularmente, discriminar de sangre

completa) por el procedimiento en dos etapas (dilución de 2 veces).

Una realización de un sistema de análisis óptico (tipo transmisión) que se puede utilizar en la presente invención se muestra en las Fig. 3 y 4.

5 Como se muestra en la Fig. 3, un diodo emisor de luz (LED) 11 y un fotodiodo (PD) 12 se sitúan opuestos entre ellos y separados por un espacio, de manera que una punta 4 se pueda situar entre ellos. En cuanto a la punta, se puede utilizar un material a través del cual pueda transmitirse la luz, y se puede mencionar, por ejemplo, cristal, plásticos transparentes tales como polietileno, poliestireno, policarbonato, plásticos poliacrílicos, o polipropileno. El diámetro interno, espesor de la pared, material o similares de la punta, y la intensidad de luz, longitud de la vía óptica, o similares de la luz se pueden seleccionar apropiadamente para optimizar el sistema óptico. Por ejemplo, cuando se utilizan puntas de polipropileno, la parte que se va a irradiar con luz tiene un diámetro externo de preferentemente 2 a 10 mm, más preferentemente de 3 a 6 mm, un diámetro interno de preferentemente 1 a 8 mm, más preferentemente 2 a 4 mm, y un espesor de la pared de preferentemente 0,2 a 2 mm, más preferentemente de 0,5 a 1 mm. En conexión con esto, la presente invención no se limita a estos valores.

15 La longitud de onda del fotodiodo no está limitada, a condición de que al menos el caso de punta sin montar, el caso de tenencia de plasma o suero, el caso de punta montada, y el caso de tenencia de sangre completa se discriminen ópticamente entre ellos. La longitud de onda de la luz emitida desde un fotodiodo de uso común incluye una región ultravioleta, una región visible, y una región infrarroja, y se puede seleccionar una longitud de onda apropiada entre estas. Por ejemplo, una región visible de 380 a 780 nm se puede utilizar preferentemente, más preferentemente de 400 a 700 nm, más preferentemente de 470 a 635 nm. En conexión con esto, la presente invención no se limita a estos intervalos de longitudes de onda.

20 Con respecto al ángulo de irradiación de la luz, es preferible irradiarla punta con luz en un ángulo recto respecto a la punta. Cuando el ángulo de irradiación no es un ángulo recto, la presente invención se puede llevar a cabo utilizando un medio para la compensación del índice de refracción producido cuando la luz se transmite a través de la punta y la muestra.

25 Como un medio para detectar la luz transmitida, se puede utilizar un medio de detección bien conocido, con modificaciones apropiadas si se desean. Por ejemplo, la salida de luz desde la fuente lumínica (LED) 11 se transmite a través de la punta, la cantidad de luz (valor de corriente) detectada con el fotodetector (fotodiodo) 12 se convierte el voltaje de la corriente por el amplificador operacional 13, los valores analógicos se digitalizan con el convertido AD 14, y los valores digitales se procesan con un software.

30 En este procedimiento, los valores o niveles digitales de acuerdo con los tipos de muestra y la presencia o ausencia de punta se pueden incluir como los umbrales por adelantado.

En la presente invención, como sistema de análisis óptico distinto del que se muestra en las Fig. 3 y 4, por ejemplo, se puede utilizar un sistema de procesamiento de imágenes utilizando una cámara CCD.

35 En el sistema de procesamiento de imágenes utilizando la cámara CCD, la luz detectada se puede capturar como una información de color pasando la luz a través de un filtro de colores primarios RGB, y la muestra se puede determinar por color. Cuando el filtro de colores primarios RGB no se utiliza, se puede determinar por graduaciones monocromáticas si se transmite luz o no.

Ejemplos

40 La presente invención se ilustrará ahora adicionalmente, pero es por medios no limitados a, mediante los siguientes Ejemplos.

Ejemplo 1: Determinación de sangre completa y plasma mediante distintas longitudes de onda

En este ejemplo, el sistema que se muestra en las Fig. 3 y 4 para analizar la luz transmitida se utilizó para determinar sangre completa y plasma.

45 Como un diodo emisor de luz (LED), se utilizaron tres tipos de LED, es decir, un led que tiene un pico de longitud de onda de 635 nm (GL3HD44; Stanley), un LED que tiene un pico de longitud de onda de 573 nm (NSPY800AS; NICHIA), y un LED que tiene un pico de longitud de onda de 470 nm (NSPB500S; NICHIA). Como fotodiodo (PD), se utilizó una PD con una sensibilidad de intervalo de longitud de onda de 320 a 1100 nm (S6775; Hamamatsu Photonics).

50 Respecto a las puntas, se utilizaron, puntas de polipropileno que tienen una parte (diámetro exterior = 3,6 mm, diámetro interno = 2,2 mm, y espesor de la pared = 0,7 mm) irradiadas con luz.

En cuanto a la muestra aspirada por la punta, se utilizaron agua (agua purificada), plasma, y sangre completa. Con respecto a los casos en los que no se montó la punta, que se montó la punta, y que se aspiró una de las muestras en la punta, se midió la cantidad de luz transmitida utilizando el sistema que se muestra en las Fig. 3 y 4. Los resultados se muestran en la Tabla 2. Las unidades utilizadas en la Tabla 2 son la tensión (V) de salida.

Como se muestra en la Tabla 2, se detectaba un valor de luz más alto cuando no estaba montada la punta (es decir, el control), y el valor de luz detectado disminuía por el montaje de la punta. Mientras que el valor de luz detectado disminuía adicionalmente cuando se aspiraba sangre completa en la punta, el valor de luz detectado aumentaba debido al efecto de lente causado por la punta cuando se aspiraba agua o plasma en la punta, en comparación con el caso de la punta sola.

A partir de estos resultados se clarificó que se podía discriminar la sangre completa del plasma midiendo el valor de luz detectado. Además, la diferencia entre el valor obtenido en el caso de la punta sola y la de la punta y plasma era suficiente para discriminar una de otra, y por lo tanto los casos de sin punta, punta sola, plasma y sangre completa se puede discriminar automáticamente. En conexión con esto, se obtuvieron resultados similares con respecto al suero.

[Tabla 2]

	470 nm	575 nm	635 nm
Control	3,52	3,49	3,29
Punta sola	0,94	1,17	1,26
Punta y agua	1,73	2,13	2,12
Punta y plasma	1,39	1,99	2,04
Punta y sangre completa	0,17	0,12	0,69

Ejemplo 2: Determinación de distintas muestras

En este ejemplo, los procedimientos descritos en el Ejemplo 1 se repitieron, excepto en que se utilizó un LED que tenía un pico de longitud de onda de 590 nm (EFY3863; Stanley) como LED de fuente de luz.

Se utilizaron como muestras el plasma, plasma suplementado con sustancias de interferencia disponibles en el mercado (adquiridos en Sysmex Corporation), sangre completa, y agua. Las sustancias de interferencia que se utilizaron y las concentraciones finales (o turbidez) de las mismas son las siguientes:

- bilirrubina (concentración = 25 mg/dl, 50 mg/dl, y 75 mg/dl)
- hemoglobina (concentración = 500 mg/dl, 750 mg/dl, 1000 mg/dl, y 1500 mg/dl)
- quilo (turbidez de formacina) (concentración = 1500 grados, 3000 grados, y 4500 grados)

Con respecto a los casos en los que la punta no se montó, en los que la punta se montó, y en los que las muestras se aspiraron en la punta, se midió la cantidad de luz transmitida de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. Cada muestra se midió 18 veces, y las ventajas del mismo se muestran en la Tabla 3. La unidad utilizada en la Tabla 3 es la tensión (V) de salida.

Como se muestra en la Tabla 3, el valor de luz detectado más alto era cuando la punta no se había montado, y el valor de luz detectado más bajo era cuando se había aspirado sangre completa en la punta. Los valores de luz detectados cuando se aspiraba un líquido (plasma, plasma suplementado con bilirrubina, plasma suplementado con hemoglobina, plasma suplementado con quilo, o agua) estaban entre los del control y los del caso de tenencia de sangre completa. Estos resultados indican que la sangre completa se puede discriminar del plasma midiendo el valor de luz detectado. Además, se clarificó a partir de estos resultados que, incluso si el plasma está coloreado por hemólisis o similares, o el plasma es un plasma opaco que tiene un contenido lipídico alto, la sangre completa se puede discriminar claramente de dicho plasma.

[Tabla 3]

Muestras para ser medidas	Tensión de salida
control (sin punta)	2,99
Punta sola	0,88
Agua	2,10
Plasma	1,88
con bilirrubina, 25 mg/dl	1,92
con bilirrubina, 50 mg/dl	1,94
con bilirrubina, 75 mg/dl	1,93
con hemoglobina, 500 mg/dl	1,89
con hemoglobina, 750 mg/dl	1,92
con hemoglobina, 1000 mg/dl	1,83
con hemoglobina, 1500 mg/dl	1,82

(continuación)

Muestras para ser medidas	Tensión de salida
con quilo (turbidez), 1500 grados (FTU)	1,84
con quilo (turbidez), 3000 grados (FTU)	1,87
con quilo (turbidez), 4500 grados (FTU)	1,74
Sangre completa	0,66

Ejemplo 3: Discriminación entre la muestra con quilo y la sangre completa

El siguiente procedimiento se llevó a cabo de acuerdo con los procedimientos que se describen en el Ejemplo 2.

- 5 Se utilizó Intrafat (al 20 %, Takeda Chemical Industries, Ltd.) para preparar muestras que tengan concentraciones (lipídicas) que se muestran en la Tabla 4. Estas muestras y la sangre completa se utilizaron como muestras.

10 Con respecto a los casos en los que una de las muestras (las muestras mencionadas anteriormente y las muestras diluidas al doble de las mismas) se aspirara en la punta, la cantidad de luz transmitida se midió de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. Cada muestra se midió 18 veces, y las medias de las mismas se muestran en la Tabla 4. La unidad que se utiliza en la Tabla 4 es la tensión (V) de salida.

Como se muestra en la Tabla 4, se clarificó que las muestras sospechosas de que han sido mal identificadas como sangre completa debido al efecto del quilo (300 mg/dl o más) se puede discriminar claramente de la sangre completa mediante el procedimiento en dos etapas.

[Tabla 4]

Muestras	Tensión de salida Procedimiento en una etapa	Tensión de salida Procedimiento en dos etapas
200 mg/dl	1,64	1,92
300 mg/dl	1,23	1,89
350 mg/dl	1,01	1,88
500 mg/dl	0,79	1,80
1000 mg/dl	0,73	1,74
1500 mg/dl	0,70	1,71
Sangre completa	0,67	0,65

15 **Aplicabilidad industrial**

La presente invención, puede aplicarse a un análisis automático de muestras de sangre completa, suero o plasma. Aunque la presente invención se ha descrito en referencia a realizaciones específicas, son posibles distintos cambios y modificaciones que son obvias para los expertos en la técnica sin alejarse del ámbito de las reivindicaciones adjuntas.

20

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de determinación de un tipo de la muestra de una sustancia que se va a analizar, en el que la muestra es sangre completa, suero, o plasma, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 5 (a) suministrar la muestra en un sistema de reacción por un medio de suministro que comprende una región transparente compuesta de un material transparente,
 (b) hacer reaccionar un reactivo para detectar la sustancia en la muestra del sistema de reacción, y
 (c) analizar una señal derivada de un producto obtenido en la reacción,
 (d) aspirar la muestra en el medio de suministro, e irradiar la región transparente del medio de suministro con luz en la etapa de suministro (a), y
 10 (e) medir la intensidad óptica T de la luz transmitida, procedimiento **caracterizado porque** adicionalmente comprende las etapas de:

15 (e1-A) comparar la intensidad óptica T con un umbral a determinado previamente entre la intensidad óptica cuando se ha aspirado plasma o suero en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro, y un umbral b determinado previamente entre la intensidad óptica cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando se ha aspirado sangre completa en el medio de suministro, y

(e1-B) determinar que cuando la intensidad óptica T es mayor que el umbral a, la muestra es plasma o suero; cuando la intensidad óptica T es menor que el umbral b, la muestra es sangre completa; y cuando la intensidad óptica T está entre el umbral a y el umbral b, no se ha aspirado muestra en el medio de suministro,

20 o

(e2-A) comparar la intensidad óptica T con un umbral a determinado previamente entre la intensidad óptica cuando se ha aspirado plasma o suero en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro, y un umbral b determinado previamente entre la intensidad óptica cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando se ha aspirado sangre completa en el medio de suministro,

25 (e2-B) determinar que, cuando la intensidad óptica T es mayor que el umbral a, se juzga que la muestra es plasma o suero; cuando la intensidad óptica T es menor que el umbral b, se lleva a cabo la siguiente etapa (e2-C); y cuando la intensidad óptica T está entre el umbral a y el umbral b, se lleva a cabo la siguiente etapa (e2D),

30 (e2-C) diluir la muestra, aspirar la muestra diluida en el medio de suministro, irradiar la región transparente con luz, medir la intensidad óptica T' de la luz transmitida, y comparar la diferencia (T'-T) entre la intensidad óptica T' y la intensidad óptica T, con el umbral c determinado previamente entre la diferencia "T'-T" cuando la muestra es una muestra de plasma o suero con quilo y la diferencia "T'-T" cuando la muestra es sangre completa, para determinar que, cuando "T'-T" es mayor que el umbral c, se juzga que la muestra es una muestra de plasma o suero con quilo; y cuando la diferencia "T'-T" no es mayor que el umbral c, se juzga la muestra como sangre completa, y

35 (e2-D) diluir la muestra, aspirar la muestra diluida en el medio de suministro, irradiar la región transparente con luz, medir la intensidad óptica T' de la luz transmitida, y comparar la diferencia (T'-T) entre la intensidad óptica T' y la intensidad óptica T, con un umbral d determinado previamente entre la diferencia "T'-T" cuando la muestra es una muestra de plasma o suero con quilo y la diferencia "T'-T" cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro, para determinar que, cuando "T'-T" es mayor que el umbral d, se juzga la muestra como una muestra de plasma o suero con quilo; y cuando la diferencia "T'-T" no es mayor que el umbral d, se juzga que no se ha aspirado muestra en el medio de suministro.

45 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el medio de suministro es un medio de dispensación en el que se puede montar una punta de pipeta y se puede aspirar y verter un líquido por medio de la punta.

3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el medio de suministro es un tubo o un canal.

4. un aparato para el análisis de una sustancia mediante las etapas de suministro de una muestra que se va a analizar en un sistema de reacción por un medio de suministro, en el que la muestra es sangre completa, suero, o plasma, hacer reaccionar un reactivo para la detección de la sustancia en la muestra del sistema de reacción, y analizar una señal derivada a partir de un producto obtenido por la reacción, estando dicho aparato **caracterizado por**:

- 55 (a) un medio de suministro que comprende una región transparente compuesta por un material transparente;
 (b) un medio de irradiación capaz de irradiar la región transparente con luz en la etapa de suministro;
 (c) un medio de análisis óptico capaz de analizar un cambio de la intensidad óptica T de la luz transmitida; y
 (d) un medio para la determinación de un tipo de muestra por la intensidad óptica, **caracterizado porque** una lógica para la determinación del medio de determinación (d) comprende:

(d1-A) comparar la intensidad óptica T con un umbral a determinado previamente entre la intensidad óptica

cuando se ha aspirado plasma o suero en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro, y un umbral b determinado previamente entre la intensidad óptica cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando se ha aspirado sangre completa en el medio de suministro, y

5 (d1-B) determinar que cuando la intensidad óptica T es mayor que el umbral a, la muestra es plasma o suero; cuando la intensidad óptica T es menor que el umbral b, la muestra es sangre completa; y cuando la intensidad óptica T está entre el umbral a y el umbral b, no se ha aspirado muestra en el medio de suministro,

o

10 (d2-A) comparar la intensidad óptica T con un umbral a determinado previamente entre la intensidad óptica cuando se ha aspirado plasma o suero en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro, y un umbral b determinado previamente entre la intensidad óptica cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro y la intensidad óptica cuando se ha aspirado sangre completa en el medio de suministro,

15 (d2-B) determinar que, cuando la intensidad óptica T es mayor que el umbral a, se juzga que la muestra es plasma o suero; cuando la intensidad óptica T es menor que el umbral b, se lleva a cabo la siguiente etapa (d2-C); y cuando la intensidad óptica T está entre el umbral a y el umbral b, se lleva a cabo la siguiente etapa (d2D),

20 (d2-C) diluir la muestra, aspirar la muestra diluida en el medio de suministro, irradiar la región transparente con luz, medir la intensidad óptica T' de la luz transmitida, y comparar la diferencia (T'-T) entre la intensidad óptica T' y la intensidad óptica T, con el umbral c determinado previamente entre la diferencia "T'-T" cuando la muestra es una muestra de plasma o suero con quilo y la diferencia "T'-T" cuando la muestra es sangre completa, para determinar que, cuando "T'-T" es mayor que el umbral c, se juzga que la muestra es una muestra de plasma o suero con quilo; y cuando la diferencia "T'-T" no es mayor que el umbral c, se juzga la muestra como sangre completa, y

25 (d2-D) diluir la muestra, aspirar la muestra diluida en el medio de suministro, irradiar la región transparente con luz, medir la intensidad óptica T' de la luz transmitida, y comparar la diferencia (T'-T) entre la intensidad óptica T' y la intensidad óptica T, con un umbral d determinado previamente entre la diferencia "T'-T" cuando la muestra es una muestra de plasma o suero con quilo y la diferencia "T'-T" cuando no se ha aspirado una muestra en el medio de suministro, para determinar que, cuando "T'-T" es mayor que el umbral d, se juzga la muestra como una muestra de plasma o suero con quilo; y cuando la diferencia "T'-T" no es mayor que el umbral d, se juzga que no se ha aspirado muestra en el medio de suministro.

5. El aparato de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el medio de suministro es un medio de dispensación en el que se puede montar una punta de pipeta y se puede aspirar y verter un líquido por medio de la punta.

6. El aparato de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el medio de suministro es un tubo o un canal.

35

Figura 1

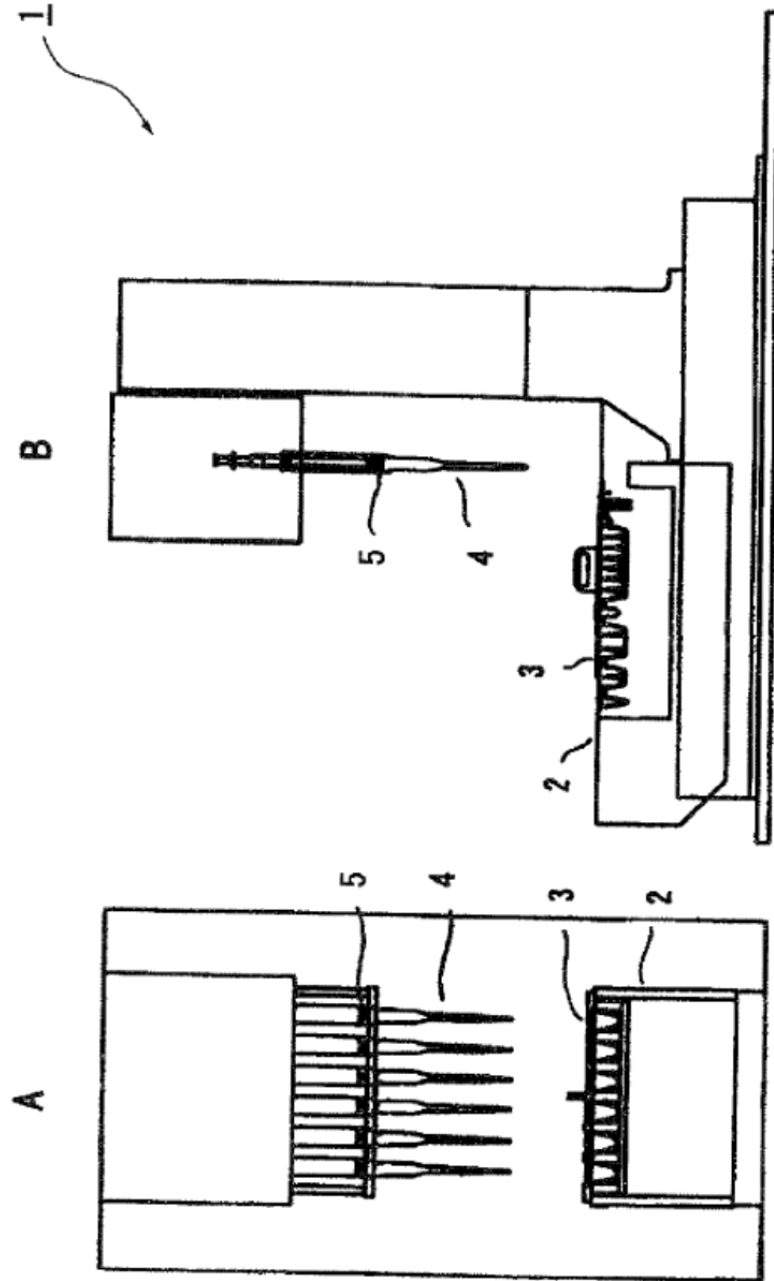


Figura 2

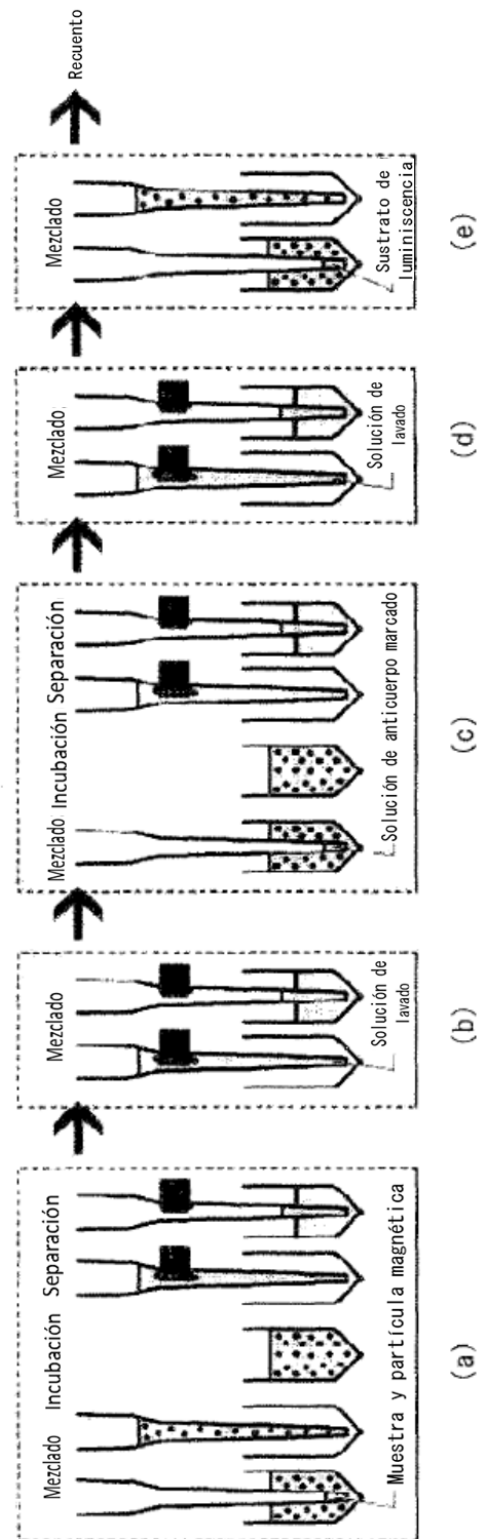


Figura 3

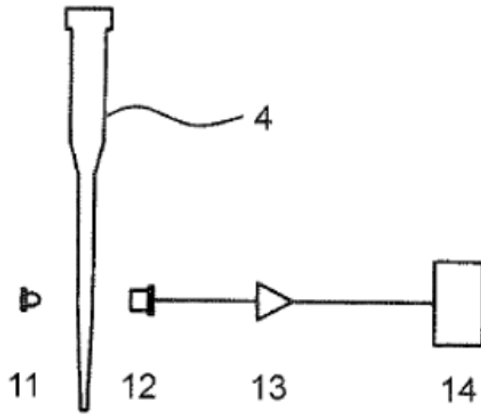


Figura 4

