

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 212**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/02** (2006.01)

**B01L 7/00** (2006.01)

**G01N 35/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.01.2012 E 12153208 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2623202**

54 Título: **Procedimiento para calentar un volumen de líquido en una aguja de pipeteado calentada, dispositivo de pipeteado y aparato de análisis automático**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.11.2018**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MICHEL, THORSTEN;  
SELVI, AYHAN y  
WIEDEKIND-KLEIN, ALEXANDER**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 691 212 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 para calentar un volumen de líquido en una aguja de pipeteado calentada, dispositivo de pipeteado y aparato de análisis automático.

5 La presente invención se sitúa en el campo de los aparatos de análisis automáticos y semiautomáticos y hace referencia a un dispositivo de pipeteado, así como a un procedimiento para calentar un volumen de líquido en una aguja de pipeteado calentada. Los dispositivos de pipeteado se utilizan en aparatos de análisis automáticos o semiautomáticos para el diagnóstico clínico, la biotecnología, el análisis ambiental o los análisis de sustancias. En los aparatos de análisis de esa clase se realizan procedimientos analíticos mezclando muestras líquidas y/o reactivos para formar una carga de reacción, y la reacción se mide cuantitativamente, por ejemplo fotométricamente.

10 Con la ayuda de dispositivos de pipeteado controlados de forma automática, los cuales usualmente funcionan como pipetas de aspiración, volúmenes dosificados de forma exacta, de muestras líquidas o reactivos, se transfieren desde recipientes de almacenamiento a recipientes de reacción. Muchos aparatos tienen la capacidad de alojar una pluralidad de muestras y de mantener disponible una pluralidad de reactivos. Por motivos de durabilidad, en particular los depósitos de reactivo en la estación de reactivos se enfrían a una temperatura por debajo de la temperatura ambiente. Para realizar un procedimiento analítico, en particular cuando éste se basa en reacciones enzimáticas, se requiere sin embargo que predomine una temperatura determinada en la carga de reacción. Por ese motivo, desde hace largo tiempo, se utilizan agujas de pipeteado que posibilitan adaptar al valor deseado la temperatura del líquido que debe transferirse antes de la descarga hacia el recipiente de reacción. Dispositivos de pipeteado calentados se describen por ejemplo en las solicitudes EP-A1-2145949, EP-A2-0496962 o US

20 2008/0044311 A1.

En los aparatos de análisis modernos pueden realizarse muchas pruebas diferentes. Esto significa que los dispositivos de pipeteado deben poder pipetear diferentes volúmenes de reactivos diferentes enfriados y, de ese modo, poder calentar a la temperatura de reacción deseada o a una temperatura próxima a la temperatura de reacción deseada.

25 En los aparatos de análisis conocidos se utilizan dispositivos de pipeteado que deben presentar constantemente la misma temperatura objetivo. En aparatos para el análisis de muestras de sangre, de plasma o de suero, la temperatura diana para los reactivos que deben pipetearse es usualmente de 37 °C. La temperatura de la aguja de pipeteado se mide con la ayuda de sensores térmicos. El dispositivo calentador se activa sólo cuando la temperatura de la aguja de pipeteado no alcanza la temperatura fijada del valor objetivo.

30 En la práctica es problemático asegurar que diferentes volúmenes de líquido se calienten del mismo modo a la misma temperatura diana, por ejemplo a 37 °C. Los volúmenes más grandes eventualmente no se calientan de modo suficiente, los volúmenes de menor tamaño probablemente se calientan en exceso, o de forma inversa. Los volúmenes que son tan reducidos que permanecen sólo en el área de la punta de aspiración de la aguja de pipeteado eventualmente tampoco se calientan de modo suficiente, porque el área de la punta de aspiración con frecuencia incluso no está calentada, o porque a lo largo de la aguja de pipeteado se encuentra presente un gradiente de temperatura, y la punta de aspiración simplemente presenta una temperatura más reducida que la parte restante de la aguja de pipeteado.

35 En la solicitud US 2008/0044311 A1 este problema se soluciona debido a que la temperatura del dispositivo de pipeteado se adapta al volumen de líquido que debe transferirse. Cuanto más grande es el volumen de líquido que debe transferirse, tanto más intensamente se calienta la aguja de pipeteado. También en el caso de volúmenes especialmente reducidos la aguja de pipeteado se calienta con mayor intensidad. En este método se considera desventajoso el hecho de que se requiere un control complicado del dispositivo calentador, y el hecho de que el dispositivo calentador debe estar proporcionado de modo que pueda templar de modo diferente la aguja de pipeteado de un paso de pipeteado al próximo paso de pipeteado. Ante todo, lo mencionado se considera

45 problemático cuando primero se pipetea un gran volumen de líquido que deben calentarse con menor intensidad e inmediatamente a continuación se pipetea un volumen de líquido más reducido que debe calentarse con mayor intensidad. En ese caso existe el riesgo de que el volumen más reducido no sea calentado lo suficiente desde la aguja de pipeteado aún menos calentada.

50 El objeto de la presente invención consiste en proporcionar medios y procedimientos que, con un dispositivo de pipeteado tradicional que presenta constantemente la misma temperatura diana, posibiliten calentar diferentes volúmenes de líquido del mismo modo, a la temperatura objetivo deseada.

Dicho objeto se soluciona debido a que con la aguja de pipeteado se aspira primero el volumen de líquido deseado y posteriormente se aspira de forma adicional un volumen de aire, debido a lo cual el volumen de líquido alcanza la aguja de pipeteado con mayor profundidad. El volumen de aire está seleccionado de modo que el volumen de líquido alcanza el área de la aguja de pipeteado calentada, en donde está colocado el sensor de temperatura, y atraviesa completamente esa área.

55

La invención hace referencia por tanto a un procedimiento para calentar un volumen de líquido en una aguja de pipeteado calentada, con un dispositivo calentador regulable y un área en donde está colocado un sensor de temperatura, donde el procedimiento comprende los siguientes pasos:

a) aspiración del volumen de líquido deseado y después

5 b) aspiración de un volumen de aire,

donde el volumen de aire está seleccionado de modo que el volumen de líquido alcanza el área de la aguja de pipeteado calentada, en donde está colocado el sensor de temperatura, y atraviesa completamente esa área.

10 Se ha comprobado que la aspiración de un volumen de aire adicional es más efectiva para alcanzar un calentamiento uniforme de distintos volúmenes de líquido que por ejemplo una incubación entre la aspiración y la descarga, es decir un tiempo de permanencia prolongado del volumen de líquido que debe pipetearse, en la aguja de pipeteado.

15 El sensor de temperatura que mide la temperatura de la aguja de pipeteado se encuentra preferentemente en un área de la aguja de pipeteado que comprueba lo más posible cada modificación de la temperatura durante la aspiración, pero que al mismo tiempo asegura una regulación correcta de la temperatura objetivo sobre toda la longitud de la aguja. Usualmente esa área se sitúa en el tercio anterior de la aguja.

La expresión "el área de la aguja de pipeteado calentada, en donde está colocado el sensor de temperatura" debe entenderse de modo que se trata de la sección a lo largo del eje longitudinal de la aguja de pipeteado, cuya longitud corresponde a la dimensión del sensor de temperatura.

20 Otro objeto de la presente invención consiste en un dispositivo para pipetear un volumen de líquido, donde el dispositivo comprende los siguientes componentes:

a) una aguja de pipeteado que puede calentarse, con un dispositivo calentador regulable, y un área en donde está colocado un sensor de temperatura;

b) medios para fijar una temperatura objetivo constante de la aguja de pipeteado;

c) medios para fijar un volumen de líquido deseado que debe aspirarse;

25 d) medios para fijar un volumen de aire que debe aspirarse, donde el volumen de aire que debe aspirarse se selecciona en función del volumen de líquido que debe aspirarse, de modo que el volumen de líquido previamente aspirado alcanza el área de la aguja de pipeteado, en donde está colocado el sensor de temperatura, y atraviesa completamente esa área.

30 Como un "medio para fijar una temperatura objetivo constante de la aguja de pipeteado" debe entenderse en general un regulador que recibe desde el sensor térmico la información sobre la temperatura del valor real de la aguja de pipeteado, que compara la temperatura del valor real con la temperatura fijada del valor objetivo y, sólo activa el dispositivo calentador si la temperatura del valor real no alcanza la temperatura fijada del valor objetivo.

35 Como un "medio para fijar un volumen de líquido deseado que debe aspirarse" debe entenderse una unidad de procesamiento de datos que contiene o recibe información sobre el volumen de líquido deseado que debe aspirarse y que controla el dispositivo de pipeteado según esa información, de manera que éste aspira el volumen deseado. La información sobre un volumen de líquido que debe aspirarse puede estar almacenada en un medio de memoria como parte de un paquete de información que define un procedimiento de prueba determinado.

40 Como un "medio para fijar un volumen de aire que debe aspirarse" debe entenderse una unidad de procesamiento de datos que contiene o recibe información sobre el volumen de aire deseado que debe aspirarse y que controla el dispositivo de pipeteado según esa información, de manera que éste aspira el volumen deseado. La información sobre un volumen de aire que debe aspirarse puede estar almacenada en un medio de memoria como parte de un paquete de información que define un procedimiento de prueba determinado. De manera alternativa, la información sobre un volumen de aire que debe aspirarse puede estar almacenada en un medio de memoria como parte de un paquete de información que a cada volumen de líquido que debe aspirarse asocia un volumen de aire que debe aspirarse. El volumen de aire que debe aspirarse se selecciona en cada caso de modo que el volumen de líquido previamente aspirado alcanza el área de la aguja de pipeteado en donde está colocado el sensor de temperatura, y atraviesa completamente esa área.

Otro objeto de la presente invención consiste en un aparato de análisis para el análisis automático de muestras, preferentemente de muestras de fluidos corporales, el cual comprende un dispositivo según la invención para pipetear un volumen de líquido.

5 Preferentemente, un aparato de análisis según la invención comprende además un dispositivo para medir propiedades ópticas de una carga de reacción, por ejemplo un fotómetro, así como un controlador del aparato. El controlador del aparato comprende una instalación de procesamiento de datos (ordenador) y una unidad de control, así como eventualmente una pantalla y un teclado.

10 La unidad de control controla los procesos de trabajo del dispositivo de medición, del dispositivo de pipeteado y de otros componentes técnicos del aparato. Además, el dispositivo de control almacena, procesa y analiza información, como por ejemplo los datos de medición determinados por el dispositivo de medición. Entre otras cosas, la unidad de control comprende un disco duro en donde se encuentran instalados distintos programas informáticos, y un procesador (CPU) que ejecuta los programas informáticos instalados. Un aparato de análisis según la invención comprende una unidad de control en donde un programa se encuentra instalado en el disco duro, el cual controla el procedimiento según la invención para calentar un volumen de líquido en una aguja de pipeteado calentada, controlando el volumen de líquido deseado que debe aspirarse y después el volumen de aire que debe aspirarse.

Descripción de las figuras

Figura 1:

20 La figura 1 muestra una aguja de pipeteado (1) que puede calentarse, la cual se compone de una aguja hueca cilíndrica de acero inoxidable. La aguja hueca presenta en un extremo una abertura (2) que puede conectarse a un sistema de aspiración, por ejemplo a un cilindro y a un pistón que puede moverse dentro. En el otro extremo, la aguja hueca presenta una sección de la punta (3) conformada cónicamente, con una abertura (4). Exceptuando la sección de la punta (3) conformada cónicamente, la aguja hueca está cubierta por un alambre calentador. La aguja hueca presenta un sensor térmico (5). El área de la aguja de pipeteado calentada, en donde está colocado el sensor de temperatura, se extiende desde x a y, y corresponde a la extensión del sensor de temperatura a lo largo del eje longitudinal de la aguja de pipeteado.

Figura 2

30 Representación gráfica de las temperaturas de descarga medidas de diferentes volúmenes de muestras de un líquido de muestra enfriado, después de la transferencia a través de una aguja de pipeteado calentada, según el ejemplo de ejecución. Curva 1: volumen de aire aspirado: 5 µL, tiempo de incubación: 0 s; curva 2: volumen de aire aspirado: 5 µL, tiempo de incubación: 500 ms; curva 3: volumen de aire aspirado: 15 µL, tiempo de incubación: 0 s; curva 4 (procedimiento según la invención): volumen de aire aspirado: 25 µL, tiempo de incubación: 0 s.

**Ejemplo**

35 Una aguja de pipeteado que puede calentarse, como se muestra en la figura 1, fue regulada a una temperatura objetivo de 41°C, y se aspiraron desde un recipiente de almacenamiento refrigerado diferentes volúmenes (9-185 µL) de agua fría a 6 °C como muestra, y se descargaron en un recipiente de almacenamiento. La temperatura del agua durante la descarga desde la aguja de pipeteado fue medida con la ayuda de un sensor que estaba colocado de forma horizontal sobre el recipiente colector. Se probaron diferentes secuencias de pipeteado, en las cuales se modificaron el tiempo de permanencia de la muestra (tiempo de incubación), así como la cantidad del volumen de aire que fue aspirado después de la aspiración de la muestra líquida. Los distintos parámetros se indican en la tabla 1.

Tabla 1

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4
Volumen de aire aspirado	5 µL	5 µL	15 µL	25 µL
Tiempo de incubación	0	500 ms	0	0

45 Las temperaturas de descarga medidas de los distintos volúmenes de muestras pipeteados se representan gráficamente en la figura 1. Cuanto con mayor profundidad se aspira el volumen de la muestra hacia la aguja hueca, tanto más intensamente se calienta la muestra, y la temperatura de descarga se acerca a la temperatura objetivo. Si

5 se comparan los resultados de la prueba 2 con los resultados de las pruebas 3 y 4, puede observarse claramente que la aspiración adicional de un volumen de aire suficientemente grande provoca un calentamiento más efectivo que un tiempo de permanencia prolongado (incubación) del volumen de la muestra en la aguja de pipeteado. El mejor resultado, en particular en lo que respecta a volúmenes reducidos, se alcanza cuando el volumen de aire aspirado adicionalmente es tan grande que el volumen total de la muestra atraviesa completamente el área en la cual está colocado el sensor térmico. En la aguja de pipeteado utilizada el sensor térmico estaba colocado de modo que fue necesario un volumen de 16  $\mu\text{L}$  de aire para hacer pasar un volumen de líquido completamente por el sensor térmico.

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para calentar un volumen de líquido en una aguja de pipeteado (1) calentada, con un dispositivo calentador regulable y un área en donde está colocado un sensor de temperatura (5), donde el procedimiento comprende los siguientes pasos:

- 5           a) aspiración del volumen de líquido deseado y después  
            b) aspiración de un volumen de aire,

caracterizado porque el volumen de aire está seleccionado de modo que el volumen de líquido alcanza el área de la aguja de pipeteado (1) calentada, en donde está colocado el sensor de temperatura (5), y atraviesa completamente esa área.

10       2. Procedimiento según la reivindicación 1, donde la aguja de pipeteado (1) presenta una temperatura objetivo constante.

3. Procedimiento según la reivindicación 2, donde el sensor de temperatura (5) sólo activa el dispositivo calentador en caso de no alcanzarse la temperatura objetivo.

15       4. Procedimiento según una de las reivindicaciones precedentes, donde el procedimiento comprende además el siguiente paso:

- c) descarga del volumen de aire y de líquido aspirado, donde entre la aspiración y la descarga no se efectúa una incubación adicional del volumen de aire y de líquido en la aguja de pipeteado.

5. Dispositivo para pipetear un volumen de líquido, donde el dispositivo comprende los siguientes componentes:

20           a) una aguja de pipeteado (1) que puede calentarse, con un dispositivo calentador regulable, y un área en donde está colocado un sensor de temperatura (5);

            b) medios configurados para fijar una temperatura objetivo constante de la aguja de pipeteado (1);

            c) medios configurados para fijar un volumen de líquido deseado que debe aspirarse;

25           d) medios configurados para fijar un volumen de aire que debe aspirarse, donde el volumen de aire que debe aspirarse se selecciona en función del volumen de líquido que debe aspirarse, de modo que el volumen de líquido previamente aspirado alcanza el área de la aguja de pipeteado, en donde está colocado el sensor de temperatura (5), y atraviesa completamente esa área.

6. Aparato de análisis para el análisis automático de muestras, el cual comprende un dispositivo según la reivindicación 5.

30       7. Aparato de análisis según la reivindicación 6, donde el medio configurado para fijar un volumen de líquido deseado que debe aspirarse, en base a información que define un procedimiento de prueba determinado, fija el volumen de líquido deseado que debe aspirarse.

8. Aparato de análisis según la reivindicación 6, donde el medio configurado para fijar un volumen de aire que debe aspirarse, en base a información que define un procedimiento de prueba determinado, fija el volumen de aire que debe aspirarse.

35

FIG 1

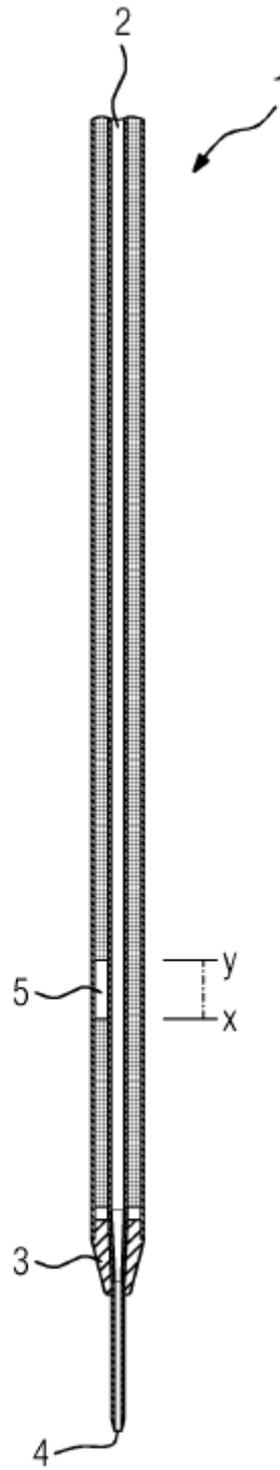


FIG 2

