

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 198**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/26** (2006.01)

**G01N 33/50** (2006.01)

**G01N 21/59** (2006.01)

**G01N 33/68** (2006.01)

**G01N 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.06.2014 PCT/EP2014/061571**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.12.2014 WO14195355**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2014 E 14728186 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2019 EP 3004880**

54 Título: **Calibración para ensayos de múltiples componentes**

30 Prioridad:

**07.06.2013 EP 13171044**

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

**22.06.2020**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)  
Grenzacherstrasse 124  
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**KLEIDER, WILHELM;  
KRÄMER, HANS-DIETER y  
SLUKA, PETER**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 768 198 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

Calibración para ensayos de múltiples componentes

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a la medición de propiedades intensivas de una muestra biológica usando un ensayo, en particular, cuando el ensayo tiene al menos dos componentes.

10 **Antecedentes y técnica relacionada**

La aplicación de funciones no lineales como modelos de calibración para ensayos de diagnóstico es estándar. En particular, estos modelos permiten un aumento significativo del intervalo dinámico de un ensayo donde la relación señal con respecto a concentración es no lineal. Sin embargo, existe una clase específica de ensayos donde se usan diferentes procesos bioquímicos para obtener resultados exactos y precisos en todo el intervalo dinámico, el intervalo de medición. Para estos ensayos, se debe demostrar que los modelos no lineales convencionales no están a la altura de las necesidades clínicas. Esto ha dado lugar al uso de modelos de *spline*, que, sin embargo, tienen desventajas, ya que no pueden discriminar hasta un punto entre el error de medición y del modelo.

20 La publicación de solicitud de patente europea EP 2 357 475 A1 divulga un procedimiento de medición de cistatina C en el líquido corporal humano. En este procedimiento, un procedimiento de inmunoensayo potenciado con partículas utiliza una combinación de partículas recubiertas con anticuerpos en la que algunas partículas transportadoras insolubles están recubiertas con anticuerpos monoclonales contra cistatina C humana de un tipo que tienen afinidad alta y en la que otras partículas transportadoras insolubles están recubiertas con anticuerpos monoclonales contra cistatina humana de una vez que reconocen un epítipo diferente del de los anticuerpos monoclonales del tipo mencionado en primer lugar y que tienen afinidad relativamente baja.

30 La publicación de solicitud de patente europea EP 0 898 169 B1 divulga un procedimiento de determinación de una curva de calibración y un procedimiento de análisis donde la curva se divide en tres regiones, una región de concentración baja aproximada mediante una función de múltiples grados, una región de concentración intermedia aproximada mediante una función exponencial y una región de concentración alta aproximada mediante una función de múltiples grados.

35 La publicación de patente de Estados Unidos US 6.277.584 B2 divulga la calibración de un ensayo convirtiendo la respuesta de señal normal de un analizador a través de una función aritmética antes de realizar el ajuste de la curva, mejorando, de este modo, la exactitud del ajuste de la curva en una región de mayor interés diagnóstico.

40 La publicación de patente europea EP 1 801 590 A1 divulga un procedimiento de aglutinación de látex mediante el que se extiende el intervalo de medición y se incrementa la sensibilidad de la medición en el intervalo de concentración baja. El procedimiento para medir un antígeno de prueba mediante aglutinación de látex usa dos tipos de partículas grandes y pequeñas, que tienen diferentes tamaños de partícula promedio. Cada partícula de látex se sensibiliza con un anticuerpo que se somete a una reacción antígeno-anticuerpo con el antígeno de prueba. La pureza del anticuerpo inmovilizado en las partículas de látex está dentro de un intervalo específico. La proporción de la cantidad del anticuerpo inmovilizado por una partícula de látex pequeña con respecto a la cantidad del anticuerpo inmovilizado por una partícula de látex grande; el tamaño de partícula promedio de las partículas de látex grandes; el tamaño de partícula promedio de las partículas de látex pequeñas; la concentración de las partículas de látex sensibilizadas grandes en el sistema de reacción antígeno-anticuerpo; y la concentración de las partículas de látex sensibilizadas pequeñas en el sistema de reacción están dentro de un intervalo específico. Las partículas de látex sensibilizadas grandes y las partículas de látex sensibilizadas pequeñas se hacen reaccionar con el antígeno de prueba en un estado suspendido en un tampón, y, a continuación, se mide ópticamente la aglutinación de las partículas de látex sensibilizadas.

55 El artículo de la revista científica Perez-Amodio *et al.*, "Effects of the Ionic Environment, Charge, and Particle Surface Chemistry for Enhancing a Latex Homogeneous Immunoassay of C-Reactive Protein," Anal. Chem. 2001, 73, 14, 3417-3425 divulga un estudio del entorno en solución para un inmunoensayo homogéneo potenciado con partículas de látex con dispersión de luz de la proteína C-reactiva (CRP) que se ha investigado para evaluar y optimizar la respuesta a la inmunoaglutinación. Se acoplaron de forma covalente partículas de látex de tamaños de 50-170 nm con un anticuerpo policlonal IgG y se sometieron a una pauta de optimización extensiva. Esto consistió en condiciones responsables, en diferentes grados, de las principales fuerzas de atracción/repulsión que afectan tanto a la estabilidad coloidal como a la interacción anticuerpo/antígeno: tamaño de partícula, concentración de anticuerpo, fuerza iónica y especies, pH y química de los aminoácidos de la superficie de partícula.

**Sumario**

65 La invención proporciona un procedimiento y un analizador automático en las reivindicaciones independientes. Se proporcionan modos de realización en las reivindicaciones dependientes.

El término 'analizador' se refiere a un dispositivo que se hace funcionar para ejecutar uno o múltiples análisis en muestras biológicas tales como sangre, orina, saliva u otros tipos de muestras. Se hace funcionar un analizador para determinar por medio de diversos procedimientos químicos, biológicos, físicos, ópticos u otros técnicos un parámetro de la muestra o un componente de la misma, denominándose en lo que sigue el parámetro 'valor de medición'. Se hace funcionar un analizador para medir dicho parámetro de la muestra o de al menos un ensayo y devolver el valor de medición obtenido. La lista de posibles resultados de análisis devueltos por el analizador comprende, sin limitación, las concentraciones del ensayo en la muestra, un resultado digital (sí o no) que indica la existencia del ensayo en la muestra (correspondiente con una concentración por encima del nivel de detección), parámetros ópticos, secuencias de ADN o ARN, datos obtenidos de espectroscopía de masas de proteínas o metabolitos y parámetros físicos o químicos de diversos tipos.

Como se apreciará por un experto en la técnica, se pueden realizar aspectos de la presente invención como un aparato, procedimiento o producto de programa informático. En consecuencia, los aspectos de la presente invención pueden tomar la forma de un modo de realización de equipo informático completamente, un modo de realización de programa informático completamente (incluyendo soporte lógico inalterable, programa informático residente, microcódigo, etc.) o un modo de realización que combine aspectos de programa informático y de equipo informático que en conjunto se pueden denominar en el presente documento, en general, "circuito", "módulo" o "sistema". Además, los aspectos de la presente invención pueden tomar la forma de un producto de programa informático realizado en uno o más medios legibles por ordenador que tienen un código ejecutable por ordenador realizado en los mismos.

Se puede utilizar cualquier combinación de uno o más medios legibles por ordenador. El medio legible por ordenador puede ser un medio de señal legible por ordenador o un medio de almacenamiento legible por ordenador. Un 'medio de almacenamiento legible por ordenador' como se usa en el presente documento engloba cualquier medio de almacenamiento tangible que pueda almacenar instrucciones que sean ejecutables por un procesador de un dispositivo informático. El medio de almacenamiento legible por ordenador se puede denominar medio de almacenamiento no transitorio legible por ordenador. El medio de almacenamiento legible por ordenador también se puede denominar medio legible por ordenador tangible. En algunos modos de realización, un medio de almacenamiento legible por ordenador también puede almacenar datos que se puedan acceder por el procesador del dispositivo informático. Los ejemplos de medios de almacenamiento legibles por ordenador incluyen, pero no se limitan a: un disquete, un disco duro magnético, un disco duro de estado sólido, memoria rápida, una memoria USB, memoria de acceso aleatorio (RAM), memoria de solo lectura (ROM), un disco óptico, un disco magnetóptico y el archivo de registros del procesador. Los ejemplos de discos ópticos incluyen discos compactos (CD) y discos versátiles digitales (DVD), por ejemplo, discos CD-ROM, CD-RW, CD-R, DVD-ROM, DVD-RW o DVD-R. El término medio de almacenamiento legible por ordenador también se refiere a diversos tipos de medios de registro a los que se puede acceder por el dispositivo informático por medio de una red o enlace de comunicación. Por ejemplo, se pueden recuperar los datos a través de un módem, a través de internet o a través de una red de área local. Se puede transmitir el código ejecutable por ordenador realizado en un medio legible por ordenador usando cualquier medio apropiado, incluyendo, pero sin limitarse a, inalámbrico, alámbrico, cable de fibra óptica, RF, etc., o cualquier combinación adecuada de los anteriores.

Un medio de señal legible por ordenador puede incluir una señal de datos propagada con código ejecutable por ordenador realizado en la misma, por ejemplo, en banda base o como parte de una onda de frecuencia alta. Dicha señal propagada puede tomar cualquiera de una variedad de formas, incluyendo, pero sin limitarse a, electromagnética, óptica o cualquier combinación adecuada de las mismas. Un medio de señal legible por ordenador puede ser cualquier medio legible por ordenador que no sea un medio de almacenamiento legible por ordenador y que pueda comunicar, propagar o transportar un programa para su uso mediante o en conexión con un sistema, aparato o dispositivo de ejecución de instrucciones.

La 'memoria informática o 'memoria' es un ejemplo de un medio de almacenamiento legible por ordenador. La memoria informática es cualquier memoria que sea directamente accesible a un procesador. 'Almacenamiento informático' o 'almacenamiento' es otro ejemplo de un medio de almacenamiento legible por ordenador. El almacenamiento informático es cualquier medio de almacenamiento legible por ordenador no volátil. En algunos modos de realización, el almacenamiento informático también puede ser una memoria informática o viceversa.

Un 'procesador' como se usa en el presente documento engloba un componente electrónico que puede ejecutar un programa o instrucción ejecutable por máquina o código ejecutable por ordenador. Las referencias al dispositivo informático que comprende "un procesador" se deben interpretar como que posiblemente contiene más de un procesador o núcleo de procesamiento. El procesador puede ser, por ejemplo, un procesador de múltiples núcleos. Un procesador también se puede referir a una colección de procesadores dentro de un único sistema informático o distribuidos entre múltiples sistemas informáticos. El término dispositivo informático también se debe interpretar para referirse posiblemente a una colección o red de dispositivos informáticos, comprendiendo cada uno un procesador o procesadores. El código ejecutable por ordenador se puede ejecutar mediante múltiples procesadores que pueden estar dentro del mismo dispositivo informático o que incluso se pueden distribuir en múltiples dispositivos informáticos.

El código ejecutable por ordenador o instrucciones ejecutables por máquina pueden comprender instrucciones ejecutables por máquina o un programa que provoca que un procesador realice un aspecto de la presente invención. El código ejecutable por ordenador para llevar a cabo operaciones para aspectos de la presente invención se puede escribir en cualquier combinación de uno o más lenguajes de programación, incluyendo un lenguaje de programación orientado a objetos, tal como Java, Smalltalk, C++ o similares, y lenguajes de programación por procedimientos convencionales, tales como el lenguaje de programación "C" o lenguajes de programación similares, y compilar en instrucciones ejecutables por máquina. En algunos casos, el código ejecutable por ordenador puede estar en forma de un lenguaje de nivel alto o una forma precompilada y usarse junto con un intérprete que genera las instrucciones ejecutables por máquina sobre la marcha.

Las instrucciones ejecutables por máquina se pueden ejecutar completamente en el ordenador del usuario, parcialmente en el ordenador del usuario, como un paquete de programa informático independiente, parcialmente en el ordenador del usuario y parcialmente en un ordenador remoto o completamente en el ordenador remoto o servidor. En la última situación, el ordenador remoto se puede conectar al ordenador del usuario a través de cualquier tipo de red, incluyendo una red de área local (LAN) o una red de área amplia (WAN), o se puede establecer la conexión a un ordenador externo (por ejemplo, a través de internet usando un proveedor de servicios de internet).

Se describen aspectos de la presente invención con referencia a diagramas de flujo, ilustraciones y/o diagramas de bloques de procedimientos, aparatos (sistemas) y productos de programa informático de acuerdo con modos de realización de la invención. Se entenderá que cada bloque o una parte de los bloques del diagrama de flujo, ilustraciones y/o diagramas de bloques se puede implementar mediante instrucciones de programa informático en forma de código ejecutable por ordenador cuando sea aplicable. Se entiende además que, cuando no sean mutuamente excluyentes, se pueden combinar combinaciones de bloques en diferentes diagramas de flujo, ilustraciones y/o diagramas de bloques. Se pueden proporcionar estas instrucciones de programa informático en un procesador de un ordenador de propósito general, ordenador de propósito especial u otro aparato de procesamiento de datos programable para producir una máquina, de modo que las instrucciones, que se ejecutan por medio del procesador del ordenador u otro aparato de procesamiento de datos programable, creen medios para implementar las funciones/acciones especificadas en el diagrama de flujo y/o bloque o bloques del diagrama de bloques.

También se pueden almacenar estas instrucciones de programa informático en un medio legible por ordenador que pueda dirigir un ordenador, otro aparato de procesamiento de datos programable u otros dispositivos para que funcionen de una manera particular, de modo que las instrucciones almacenadas en el medio legible por ordenador produzcan un artículo de fabricación, incluyendo instrucciones que implementan la función/acción especificada en el diagrama de flujo y/o bloque o bloques del diagrama de bloques.

También se pueden cargar las instrucciones de programa informático en un ordenador, otro aparato de procesamiento de datos programable u otros dispositivos para provocar que se realice una serie de etapas de funcionamiento en el ordenador, otro aparato programable u otros dispositivos para producir un procedimiento implementado por ordenador, de modo que las instrucciones que se ejecutan en el ordenador u otro aparato programable proporcionan procedimientos para implementar las funciones/acciones especificadas en el diagrama de flujo y/o bloque o bloques del diagrama de bloques.

Una 'interfaz de equipo informático' como se usa en el presente documento engloba una interfaz que posibilita que el procesador de un sistema informático interactúe y/o controle un dispositivo y/o aparato informático externo. Una interfaz de equipo informático puede permitir que un procesador envíe señales de control o instrucciones a un dispositivo y/o aparato informático externo. Una interfaz de equipo informático también puede posibilitar que un procesador intercambie datos con un dispositivo y/o aparato informático externo. Los ejemplos de una interfaz de equipo informático incluyen, pero no se limitan a: un bus serie universal, puerto IEEE 1394, puerto paralelo, puerto IEEE 1284, puerto en serie, puerto RS-232, puerto IEEE-488, conexión bluetooth, conexión de red inalámbrica de área local, conexión TCP/IP, conexión por Ethernet, interfaz de voltaje de control, interfaz MIDI, interfaz de entrada analógica e interfaz de entrada digital.

En un aspecto, la invención proporciona un procedimiento de análisis de una muestra biológica usando un analizador y un ensayo. Se hace funcionar el analizador para medir una señal indicativa de una propiedad intensiva de un analito en la muestra biológica. Una propiedad intensiva es una propiedad física de la muestra biológica que es invariante a escala. Por ejemplo, la concentración de una molécula, compuesto o sustancia particular es una propiedad intensiva. Una propiedad intensiva también se puede denominar una propiedad intrínseca, una cantidad intensiva o una variable intensiva.

El ensayo se añade a la muestra biológica y, a continuación, se realiza una medición usando el analizador. El ensayo reacciona de alguna manera con el analito y también es responsable de generar la señal. Por ejemplo, el analizador puede tener un espectrofotómetro de transmisión donde se mide la transmisión de luz a través de la muestra biológica. El ensayo puede reaccionar con el analito de tal manera que se pueda determinar una propiedad intensiva realizando mediciones de transmisión específicas de la muestra biológica. Una muestra biológica como se

usa en el presente documento engloba una muestra que comprende material generado por un proceso bioquímico o un sistema biológico. En algunos casos, un sistema biológico puede incluir partes o productos de un organismo vivo o productos químicos o materiales derivados, replicados o copiados de un organismo. Por ejemplo, se puede copiar ADN o ARN mediante un procedimiento de PCR, aunque el material no se genere directamente por un organismo, se derivó de un sistema biológico u organismo. La propiedad intensiva del analito puede ser una propiedad física de la muestra biológica que se puede medir.

El procedimiento comprende la etapa de proporcionar el ensayo. Se hace funcionar el ensayo para producir la señal. El ensayo tiene un número predeterminado de componentes. Es decir, el ensayo es una mezcla de un número predeterminado de componentes. Los componentes predeterminados son mayores que o iguales a 2. Cada uno del número predeterminado de componentes tiene una relación distinta entre la propiedad intensiva y la señal. En otras palabras, el ensayo está compuesto de dos o más ensayos distintos. Estos dos ensayos se mezclan entre sí para formar el ensayo y cada uno de los componentes individuales tiene una relación distinta entre la propiedad intensiva y la señal. Puesto que todos los componentes individuales reaccionan y contribuyen a la señal, la calibración tiene en cuenta la contribución de cada uno de los componentes.

El procedimiento comprende además proporcionar un número establecido o número fijado de muestras de calibración con valores conocidos para la propiedad intensiva. El procedimiento comprende además medir una señal de calibración para cada una de las muestras de calibración usando el analizador y el ensayo. Es decir, se añade el ensayo a cada una de las muestras de calibración y se mide una señal de calibración para cada una. El procedimiento comprende además la etapa de determinar una calibración ajustando una función de calibración a la señal de calibración para cada una de las muestras de calibración y los valores conocidos para la propiedad intensiva. La función de calibración es equivalente a una constante más un término de decaimiento exponencial para cada uno del número predeterminado de componentes. El término equivalente se usa aquí porque la función de calibración se puede obtener algebraicamente de diferentes maneras.

La función de calibración se puede escribir en una variedad de maneras. Se puede considerar que una función de decaimiento exponencial tiene la forma  $(1 - \text{Exp}(-p_3 \cdot \text{conc}))$  o  $\text{Exp}(-p_3 \cdot \text{conc})$ , en la que  $p_3$  es una constante o parámetro de calibración. Si el ensayo tiene dos componentes, entonces la función de calibración puede tener la forma:

$$f(\text{conc}) = p_1 + p_2 * (1 - \text{Exp}(-p_3 \cdot \text{conc})) + p_4 * (1 - \text{Exp}(-p_5 \cdot \text{conc})), \quad (1)$$

donde  $p_1$ ,  $p_2$ ,  $p_3$ ,  $p_4$  y  $p_5$  son constantes que tienen su valor ajustado para definir la calibración.  $f$  es el valor de la señal, por ejemplo, la concentración  $\text{conc}$  del analito.  $\text{Exp}$  es la función exponencial. La ecuación 1 se puede obtener algebraicamente de una variedad de maneras. Por ejemplo, la siguiente ecuación es equivalente a la ecuación previa:

$$f(\text{conc}) = K1 - p_2 * \text{Exp}(-p_3 \cdot \text{conc}) - p_4 * \text{Exp}(-p_5 \cdot \text{conc}), \quad (2)$$

donde  $K1 = p_1 + p_2 + p_4$ .

El procedimiento comprende además la etapa de medir la señal de la muestra biológica usando el analizador y el ensayo. El procedimiento comprende además la etapa de calcular la propiedad intensiva usando la señal y la calibración. Este modo de realización puede ser beneficioso porque cuando existe un ensayo con múltiples componentes y cada uno contribuye a la misma señal, se puede realizar la calibración usando un número más pequeño de muestras de calibración.

Cada uno de los componentes del ensayo tiene una relación distinta con la señal. Dependiendo del sistema de medición y el ensayo particular, esto puede tener diferentes relaciones. Los diferentes componentes pueden tener diferentes procesos químicos que se siguen. Por ejemplo, pueden existir diferentes cambios en las longitudes de onda, diferentes cambios en las temperaturas después de que se cambie el ensayo o diferentes propiedades de transmisión. Se pueden usar diferentes modos para medir la señal. Se pueden usar procedimientos espectroscópicos que dependen de la transmisión de la luz. En otros ejemplos, se puede usar quimioluminiscencia, también se pueden realizar mediciones de temperatura o pH. El procedimiento también es aplicable a procedimientos de resonancia magnética nuclear o RMN.

En la invención, el número establecido es al menos 2 veces el número predeterminado de componentes más 1. Cada término de decaimiento exponencial tiene dos parámetros de calibración. En este modo de realización, cada número predeterminado de componentes tiene un término de decaimiento exponencial que se corresponde con él. El término de decaimiento exponencial se puede escribir de diferentes maneras; sin embargo, cada término de decaimiento exponencial independientemente de su forma tendrá dos parámetros de calibración. Un parámetro de calibración es una constante que se puede ajustar para ajustar la curva de calibración. Si el número establecido es igual al número de parámetros de calibración, entonces se puede calcular una solución para la función de calibración. En algunos ejemplos, también se usa un número más grande que 2 veces el número predeterminado de componentes más 1. En este caso, se debe medir un número más grande de muestras de calibración. Si el

procedimiento o las muestras tienen algo de ruido, puede ser beneficioso tener repeticiones adicionales de las mediciones de calibración.

5 En la invención, el número establecido es dos veces el número predeterminado de componentes más uno. Cada término de decaimiento exponencial tiene dos parámetros de calibración. Entonces, el número de variables en la ecuación de calibración es 2 veces el número de términos de decaimiento exponencial más uno. Los dos parámetros de calibración para cada término de decaimiento exponencial son dos variables que contribuyen a la ecuación de calibración. Este modo de realización puede ser beneficioso porque el número de muestras es exactamente el número necesario para proporcionar una solución a la función de calibración.

10 En la invención, el número establecido es dos veces el número predeterminado de componentes más dos, tres, cuatro o cinco. Cada término de decaimiento exponencial tiene dos parámetros de calibración. En este modo de realización, el número de componentes es uno, dos, tres o cuatro más de lo que es necesario para proporcionar una solución a la función de calibración. Esto puede proporcionar una calibración eficaz con un número limitado de mediciones adicionales que se pueden usar para comprobar errores o para permitir el uso de un algoritmo de ajuste.

15 En un ejemplo, el número establecido es dos veces el número predeterminado de componentes más 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15. Cada término de decaimiento exponencial tiene dos parámetros de calibración. En este modo de realización, el número de componentes es mayor de lo que es necesario para proporcionar una solución a la función de calibración. Esto puede proporcionar una calibración eficaz con un número limitado de mediciones adicionales que se pueden usar para comprobar errores o para permitir el uso de un algoritmo de ajuste.

20 En un ejemplo, la función de calibración tiene una serie de parámetros de calibración. El número establecido es igual o más grande que el número de parámetros de calibración. Los parámetros de calibración como se menciona anteriormente son constantes que se pueden ajustar en la función de calibración.

25 En otro modo de realización, la señal comprende una cualquiera de las siguientes: una medición electroquímica, una medición de quimioluminiscencia, una medición nefelométrica, una medición de desintegración radioactiva o de recuento radioactivo, una medición de transmisión fotométrica, una medición de dispersión fotométrica y combinaciones de las mismas.

30 En otro modo de realización, la propiedad intensiva es una concentración del analito. En algunos ejemplos, la concentración puede ser una concentración molecular.

35 En otro modo de realización, el analizador comprende un módulo de medición fotométrica que se hace funcionar para medir la señal, en el que la señal es al menos una parte de un espectro de transmisión fotométrica.

40 En otro modo de realización, la concentración molecular es una concentración molecular de proteína C-reactiva. El número predeterminado de componentes es de 2. El número predeterminado de componentes comprende partículas de primer tamaño y partículas de segundo tamaño. Las partículas de primer tamaño son de 130 nm (+/-20 nm) de diámetro y están recubiertas con anticuerpo monoclonal murino. Las partículas de segundo tamaño son de 200 nm (+/-20 nm) y están recubiertas con diferentes anticuerpos monoclonales murinos. Las partículas son diferentes en tamaño y las afinidades de los anticuerpos monoclonales murinos en los dos tipos son diferentes por naturaleza.

45 La solicitud de patente europea EP 0 790 500 B1 divulga el uso de partículas de 89 nm, 124 nm, 221 nm y una combinación de 89 nm y 221 nm recubiertas con anticuerpo monoclonal murino.

50 En otro modo de realización, el analizador es un analizador automático. Un analizador automático como se usa en el presente documento es un analizador que automatiza al menos una parte del procedimiento de análisis de la muestra biológica. Esto puede incluir mediciones y el registro de datos. En otros ejemplos, se hace funcionar el analizador automático para preparar la muestra, tal como añadiendo una solución o ensayo o incluso diluyente a la muestra biológica. En otros modos de realización, el analizador automático también puede cargar y descargar automáticamente diferentes muestras biológicas. Por ejemplo, se puede hacer funcionar el analizador automático para recibir el conjunto de muestras de calibración y realizar la calibración automáticamente sin intervención humana.

55 En otro aspecto, la invención proporciona un analizador automático para analizar la muestra biológica. Se hace funcionar el analizador para medir una señal descriptiva de una propiedad intensiva de un analito en la muestra biológica usando un ensayo. Es decir, se mezcla el ensayo con la muestra biológica y, a continuación, el analizador mide la señal. En algunos ejemplos, se puede hacer funcionar el analizador automático para realizar el ensayo automáticamente en la muestra biológica antes de realizar la medición. Se hace funcionar el analizador automático para recibir el ensayo. El ensayo tiene un número predeterminado de componentes. El número predeterminado de componentes es mayor que o igual a 2. Cada uno del número predeterminado de componentes tiene una relación distinta entre la propiedad intensiva y la señal. El analizador automático comprende una memoria para almacenar instrucciones ejecutables por máquina. El analizador automático comprende un procesador para controlar el analizador automático. La ejecución de las instrucciones provoca que el procesador reciba una calibración. La

calibración se define mediante una función de calibración equivalente a una constante más un decaimiento exponencial para cada uno de los componentes predeterminados. La ejecución de las instrucciones provoca además que el procesador añada el ensayo a la muestra biológica usando el analizador automático. La ejecución de las instrucciones provoca además que el procesador mida la señal de la muestra biológica usando el analizador automático. La ejecución de las instrucciones provoca además que el procesador calcule la propiedad física usando la señal y la calibración.

En otro modo de realización, la ejecución de las instrucciones provoca además que el procesador reciba un número establecido de muestras de calibración con valores conocidos para la propiedad intensiva usando el analizador. La ejecución de las instrucciones provoca además que el procesador mida una señal de calibración para cada una de las muestras de calibración usando el analizador y el ensayo. En algunos ejemplos, la ejecución de las instrucciones también puede provocar que el procesador distribuya el ensayo en cada una de las muestras de calibración usando el analizador. La ejecución de las instrucciones provoca además que el procesador determine una calibración ajustando la función de calibración a la señal de calibración para cada una de las muestras de calibración y el valor conocido de la propiedad intensiva. En algunos ejemplos, el número establecido es al menos 2 veces el número predeterminado de componentes más 1. Cada uno de los términos de decaimiento exponencial tiene dos parámetros de calibración. Además, en algunos ejemplos, la función de calibración tiene una serie de parámetros de calibración. El número establecido es igual a o mayor que el número de parámetros de calibración.

En otro modo de realización, la ejecución de las instrucciones provoca además que el procesador reciba información de parámetros descriptiva de la calibración. Por ejemplo, la información de parámetros puede ser datos de calibración previamente medidos, valores para constantes en la función de calibración y/o intervalos de valores para constantes en la función de calibración. Por ejemplo, los valores o el intervalo de valores pueden ser conocidos con antelación para un lote particular o tipo de ensayo. Esto puede reducir adicionalmente el número de muestras de calibración que se necesitan usar. También se puede usar la información de parámetros junto con señales de calibración medidas para determinar la función de calibración.

En otro modo de realización, el analizador automático comprende el ensayo.

En otro modo de realización, la señal comprende uno cualquiera de los siguientes: una medición electroquímica, una medición de quimioluminiscencia, una medición nefelométrica, una desintegración o recuentos radioactivos, una medición de dispersión fotométrica, una medición de transmisión fotométrica y combinaciones de los mismos.

En otro modo de realización, la propiedad intensiva es una concentración.

En otro modo de realización, el analizador comprende un módulo de medición fotométrica que se hace funcionar para medir la señal. La señal es al menos una parte del espectro de transmisión fotométrica.

En otro modo de realización, la concentración es la concentración de proteína C-reactiva. El número predeterminado de componentes es de 2. El número predeterminado de componentes comprende partículas de primer tamaño y partículas de segundo tamaño. Las partículas de primer tamaño son de aproximadamente 130 nm de diámetro y están recubiertas con un anticuerpo monoclonal murino. Las partículas de segundo tamaño son de aproximadamente 220 nm y están recubiertas con un anticuerpo monoclonal murino con afinidad diferente.

Se entiende que uno o más de los modos de realización mencionados anteriormente de la invención o ejemplos se pueden combinar siempre que la combinación no sea mutuamente excluyente.

### Breve descripción de los dibujos

En lo que sigue, se explican modos de realización de la invención con mayor detalle, solo a modo de ejemplo, haciendo referencia a los dibujos, en los que:

la fig. 1 ilustra un ejemplo de un procedimiento;

la fig. 2 ilustra otro ejemplo de un procedimiento;

la fig. 3 ilustra la combinación de varias funciones de decaimiento exponencial; y

la fig. 4 ilustra un ejemplo de un analizador automático.

### Descripción detallada

Elementos numerados de la misma forma en estas figuras son elementos equivalentes o realizan la misma función. Los elementos que se han analizado previamente no se analizarán necesariamente en figuras posteriores si la función es equivalente.

La fig. 1 muestra un diagrama de flujo que ilustra un ejemplo de un procedimiento para analizar la muestra biológica usando un analizador y un ensayo. Se hace funcionar el analizador para medir una señal indicativa de la propiedad intensiva de un analito en la muestra biológica. En la etapa 100, se proporciona un ensayo. Se hace funcionar el ensayo para producir una señal. Se puede hacer funcionar el ensayo para producir una señal cuando se mide con el analizador. El ensayo tiene un número predeterminado de componentes. El número predeterminado de componentes es  $> 0 = a 2$ . Cada uno del número predeterminado de componentes tiene una relación distinta entre la propiedad intensiva y la señal. Luego, en la etapa 102, se proporciona un conjunto de muestras de calibración.

Las muestras de calibración tienen valores conocidos para la propiedad intensiva. Por ejemplo, las muestras de calibración pueden tener diferentes concentraciones de un compuesto o producto químico en particular. Luego, en la etapa 104, se mide una señal de calibración para cada una de las muestras de calibración usando el analizador y el ensayo. Por ejemplo, se puede distribuir el ensayo en cada una de las muestras de calibración. Luego, en la etapa 106, se determina una calibración ajustando una función de calibración a la señal de calibración para cada una de las muestras de calibración y los valores conocidos para la propiedad intensiva. La función de calibración es equivalente a una constante más un término de decaimiento exponencial para cada uno del número predeterminado de componentes. Luego, en la etapa 108, se mide la señal de la muestra biológica usando el analizador y el ensayo. Finalmente, en la etapa 110, se calcula la propiedad intensiva usando la señal y la calibración.

La fig. 2 muestra otro ejemplo de un procedimiento de análisis de una muestra biológica usando un analizador y un ensayo. En el ejemplo de la fig. 2, en primer lugar se realiza una calibración y, a continuación, se usa la calibración para la determinación de una propiedad física o propiedad intensiva de un analito. En la etapa 200, los valores del punto de ajuste del calibrador se descargan en un analizador. Estos son equivalentes a los valores conocidos para la propiedad intensiva. En la etapa 202, la medición de los puntos de ajuste del calibrador se realiza usando el analizador. Esto proporciona valores de señal. Los valores de señal son equivalentes a las señales de calibración para cada una de las muestras de calibración. A continuación, en la etapa 204, los valores de concentración y los valores de señal proporcionan un conjunto de datos para cada punto de ajuste del calibrador. Luego, en la etapa 206, se calcula la curva de calibración. En algunos ejemplos, esto se puede describir mediante la fórmula de la curva y los parámetros de la curva. La fórmula de la curva y los parámetros de la curva son la función de calibración. Los parámetros de la curva son los parámetros de calibración o las constantes que varían en la función de calibración. Este cálculo de la calibración se puede realizar, por ejemplo, mediante regresión de los conjuntos de datos de señal y concentración usando un algoritmo de ajuste iterativo para minimizar la desviación entre los conjuntos de datos y la curva ajustada. Esto se puede realizar de una variedad de maneras. Una simple manera de realizar esto sería usando un procedimiento de ajuste de mínimos cuadrados. Si el número de puntos de datos de señal y concentración es igual a  $2 \times$  el número predeterminado de componentes  $+ 1$ , entonces se pueden resolver los parámetros de la curva de calibración. La etapa 206 proporciona una función de calibración o una curva de calibración con parámetros. Luego, en la etapa 208, se mide una muestra usando el analizador. Por ejemplo, esto puede ser una muestra del paciente o alguna clase de material de control para comprobar la calibración. Esto proporciona un valor de señal o señal. En la etapa 210, se realiza el cálculo de la concentración en la muestra o propiedad intensiva usando la señal de la muestra y una curva de calibración ajustada.

La fig. 3 muestra un gráfico de varias funciones. El eje x está en unidades arbitrarias 300 y el eje y 302 también está en unidades arbitrarias. La función 304 representa el valor de la curva de  $1-e$  elevada a  $-x$ . 304 es un ejemplo de un término de decaimiento exponencial. La curva 306 es la función  $1-e$  elevada a  $-5x$ . La curva 306 ilustra otro ejemplo de una función de decaimiento exponencial. La curva 308 es la suma de las curvas  $304 + 306$ . Se puede observar que tras el examen, la curva 308 parece similar a un término de decaimiento exponencial. Cuando se realiza una calibración, uno puede tratar de ajustar en realidad un término de decaimiento exponencial a la curva 308 por sí mismo. Sin embargo, debido a la suma de las curvas 304 y 306, el ajuste sería mediocre en el mejor de los casos. La fig. 3 ilustra cómo, cuando existen múltiples componentes que contribuyen a la misma señal 308, la invención puede proporcionar un mejor medio de ajuste de una curva de calibración.

La fig. 4 muestra un ejemplo de un analizador automático 400. Se hace funcionar el analizador automático 400 para analizar una muestra biológica 404. Existe un distribuidor 406 que se hace funcionar para distribuir un ensayo 408 en una muestra biológica 404. La muestra biológica comprende un analito. Por ejemplo, el ensayo 208 se puede localizar dentro de un cartucho. El ensayo 208 comprende al menos dos componentes que también son ensayos.

Aunque no se muestra en esta fig., el analizador automático 400 puede tener un aparato para situar múltiples muestras biológicas 404 para distribuir el analito y también para analizarse mediante un módulo de medición 410. El módulo de medición 410 es representativo de muchos tipos diferentes de sensores o instrumentos que pueden realizar mediciones en una muestra biológica 404.

El distribuidor 406 y el módulo de medición 410 están conectados a una interfaz de equipo informático 414 de un sistema informático 412. El ordenador 412 comprende además un procesador 416 que está en conexión con la interfaz de equipo informático 414, una interfaz de usuario 418, almacenamiento informático 420 y memoria de ordenador 422.

El almacenamiento informático 420 se muestra como que contiene los valores 430 para las propiedades intensivas

de las muestras de calibración. El almacenamiento informático 420 se muestra además como que contiene señales de calibración para las muestras de calibración 432. El almacenamiento informático se muestra además como que contiene una calibración 434 que se ha calculado usando los valores 430 y las señales de calibración 432. El almacenamiento informático 420 muestra además la señal de una muestra biológica 436 que se ha medido por el módulo de medición 410. El almacenamiento informático 420 se muestra además como que contiene un valor 438 de una propiedad intensiva calculada usando la señal 436 y la calibración 434.

La memoria informática 422 se muestra como que contiene un módulo de control 440. El módulo de control 440 comprende un código ejecutable por ordenador que posibilita que el procesador 416 controle el funcionamiento y la función del analizador automático 400. Por ejemplo, posibilita que el procedimiento 416 envíe comandos por medio de la interfaz de equipo informático 414 y reciba información desde el distribuidor 406 y el módulo de medición 410. Si están presentes, este módulo también posibilita que el procesador 416 controle el enrutamiento automático y el procesamiento de la muestra biológica 404. La memoria informática 422 se muestra además como que contiene un módulo de ajuste de la curva 442. El módulo de ajuste de la curva contiene un código ejecutable por ordenador que posibilita que el procesador 416 calcule la calibración 434 usando las señales de calibración 432 y los valores 430. La memoria informática 422 se muestra además como que contiene un módulo de determinación de propiedades intensivas 444. El módulo 444 usa la calibración 434 y la señal 436 para calcular el valor 438.

En algunos ejemplos, las curvas de calibración conocidas pueden no coincidir bien con la forma de la curva de calibración. En este caso, a menudo se usa el modelo de *spline*, una *spline* lineal o bien cúbica. Sin embargo, el uso de una *spline* puede requerir un gran número de mediciones de calibración. Se pueden aplicar ejemplos de la función de calibración a la llamada prueba de CRP. CRP es una abreviatura para proteína C-reactiva. Las proteínas C-reactivas son proteínas encontradas en la sangre cuyos niveles se elevan en respuesta a una inflamación. La CRP es una proteína de la fase aguda clásica para reacciones inflamatorias. Se sintetiza por el hígado y consiste en cinco cadenas polipeptídicas idénticas que forman un anillo de cinco miembros que tiene un peso molecular de 120000 daltons. La CRP es la más sensible de los reactivos de la fase aguda y su concentración se incrementa rápidamente durante los procesos de inflamación. Obviamente, las personas sanas solo tienen una concentración muy baja de la proteína C-reactiva en la sangre. Los valores de referencia de acuerdo con la normalización de proteínas según IFCC/ERM son de menos de 5 mg por litro. Durante los procesos de inflamación aguda, las concentraciones de CRP en suero y/o plasma se pueden incrementar hasta 1000 veces. El ensayo de CRP, por lo tanto, se enfrenta a dos inconvenientes. Las concentraciones bajas de CRP en suero de personas obviamente sanas, especialmente alrededor del intervalo de decisión de 5 mg por litro, se deben medir con exactitud y sensibilidad altas, así como el ensayo debe poder detectar concentraciones altas de CRP en suero en pacientes con procesos inflamatorios agudos sin tasas de repetición demasiado altas. Algunos ensayos de CRP pueden detectar CRP sin repeticiones dentro del intervalo de concentración de 0,3 mg por litro y 350 mg por litro. Esto se puede lograr con la ayuda de dos micropartículas diferentes (DuRel). Una partícula de tamaño pequeño de aproximadamente un tamaño de 130 nm, recubierta con MAb frente a CRP con afinidad baja y una partícula de tamaño más grande de aproximadamente 220 nm recubierta con un MAb frente a CRP con afinidad alta. La combinación de estos dos tipos de partículas en un reactivo da lugar a un solapamiento de curvas de unión o curvas de calibración. Un fuerte incremento de la señal a concentraciones bajas de CRP inducido por las partículas grandes se combina con un incremento moderado de la señal a concentraciones mayores, inducido por las partículas pequeñas. La curva de señal de la dosis es una combinación de las dos curvas de unión y su forma no es típica para ensayos turbidimétricos basados en látex. Los seis puntos de ajuste disponibles se deben distribuir en la mayoría de un intervalo de concentración menor de la curva de calibración, cuatro puntos entre 0 y 9 mg por litro, dos entre 90 y 350 mg por litro, para lograr la exactitud necesaria en un intervalo de concentración menor. El ajuste de las curvas de calibración resultantes con funciones de calibración estándar es un problema que no se ha resuelto con la exactitud necesaria hasta la fecha. La mayoría de las funciones de calibración no lineales no cumplen adecuadamente con los puntos de ajuste. Por lo tanto, no son adecuadas, porque la exactitud en el punto de decisión médica es insuficiente. En realidad, un modelo lineal no es adecuado para cubrir el intervalo de medición completo entre 0,3 y 350 mg por litro. Incluso el modelo de Rodbard no lineal mencionado anteriormente no puede proporcionar ajustes lo suficientemente exactos, especialmente en el intervalo de decisión médica, aproximadamente 5 mg por litro.

Hasta el momento, el estado de la técnica actual ha sido ajustar una función *spline*. Sin embargo, como ya se ha analizado, la función *spline* implica desventajas con respecto a la solidez y exactitud. Los ejemplos pueden proporcionar un nuevo procedimiento de calibración de pruebas de diagnóstico usando una nueva curva de calibración. Para la prueba de CRP que usa dos tamaños de partícula, se puede usar una función modelo de cinco parámetros.

En el inicio temprano del historial de calibración para el ensayo, se restringió el ajuste de la curva a simples líneas rectas. El ajuste es fácil y siempre ha sido uno de los mejores conjuntos de parámetros. A menudo fue necesario un gran esfuerzo para hacer que la reacción química fuera lineal en el intervalo objetivo. Con requisitos crecientes para el intervalo de medición, este enfoque estuvo limitado muy temprano. Otro enfoque es el uso de modelos locales, por ejemplo, la *spline*. Especialmente, las *splines* que implican términos de mayor orden se ajustan perfectamente a la medición, pero no mantienen una curva global estable, ni tampoco se adaptan al error de medición.

La siguiente generación de curvas de calibración son curvas sigmoidales no lineales. Se originan a partir de la teoría de la respuesta a la dosis que se introdujo para modelar reacciones enzimáticas por Rodbard. Estos modelos son el estado de la técnica y están disponibles en casi todos los analizadores en el mercado. Modelan la reacción de un reactivo dado con el analito dentro de la muestra humana. Estos modelos funcionan bien para muchos ensayos inmunológicos y permiten ampliar muy significativamente los intervalos de medición. Con otro incremento de los requisitos, especialmente con respecto al intervalo de medición, se necesitan formatos de ensayo más complejos. Finalmente, los múltiples flujos de reacciones superpuestas ayudan a explicar los requisitos potenciados. El modelo sigmoidal clásico, el modo de reacción única clásico no está a la altura de los nuevos tipos de múltiples reacciones superpuestas con suficiente rendimiento. La idea de reacciones superpuestas en el lado químico necesita una respuesta apropiada en el lado matemático. Comenzando a partir de la cinética básica, la idea de superposición se analizó y transfirió de una manera muy sistemática para satisfacer los nuevos requisitos cumplidos.

Un punto clave es la estrategia para la selección y la evaluación del modelo matemático. Aunque la selección es más o menos sencilla: cualquier número de parámetro pequeño analítico no lineal de función escalar que pueda modelar curvas monótonas suaves es un candidato válido. La evaluación de la nueva función del algoritmo es un procedimiento complejo. Para hacer que todas las etapas pertinentes sean lo más claras posible, tiene sentido referirse a la solución final: al final del todo se quiere tener solo unos pocos calibradores, 4-5, para modelar la relación entre la concentración y la señal sin sesgo y la variabilidad debida a la calibración. Esto debe ser verdadero para todo el intervalo de medición y especialmente para el área donde el resultado es clínicamente crítico.

Al comienzo, se debe establecer la relación completa y verdadera entre señal y concentración. Esto se realiza mediante un gran conjunto de calibradores, por ejemplo, más de diez, que cubren todo el intervalo de medición. Los datos deben cubrir varios dispositivos, varias tandas para explicar el posible sistema de medición y las fluctuaciones en los reactivos. Además, también deben estar implicados los preparativos automáticos y manuales de los calibradores, dilución, por varios operadores, si resulta apropiado. Sobre esta base, se pueden establecer una o múltiples curvas típicas, por ejemplo, específicas de sistema.

La siguiente etapa es buscar una función adecuada que pueda describir adecuadamente la relación señal con respecto a concentración. Sin embargo, la función matemática es solo la mitad de la historia. Se puede realizar la optimización no lineal siguiendo diferentes enfoques. Básicamente, en el ajuste de parámetros, se minimiza una forma cuadrática. Al final del día, un algoritmo de optimización finalmente da lugar a un conjunto final de parámetros para la función de calibración seleccionada. Se examinaron diferentes algoritmos de estrategia de optimización como 'Nelder-Mead', 'Taylor', 'Levenberg-Marquardt' o recocido simulado.

Comenzando con muchos calibradores, por ejemplo, más de 10, la forma de la curva se fija bien y la curva ajustada se puede verificar fácilmente comprobando la proximidad de la concordancia entre los datos y la curva en un conjunto grande y bien definido de datos de la curva de calibración. Una vez que se hayan identificado buenas soluciones para el gran conjunto de calibradores, se debe demostrar que el modelo matemático y el procedimiento de ajuste también funciona para la rutina con 4-5 calibradores. El objetivo aquí es demostrar que no existe pérdida de calidad de ajuste cuando se pasa de 20 a 5 calibradores. Un criterio importante para evaluar los modelos candidatos son los residuos, así como la desviación global de una solución de 5 calibradores de la solución de n, n>10, calibradores original.

Otra estrategia para la evaluación de soluciones candidatas potenciales reside en las simulaciones. Comenzando a partir de una curva dada por los parámetros, es posible leer puntos de la curva en una posición de concentración típica que se conocen a partir de los calibradores. A continuación, se añade a la señal algún ruido típico que se espera del análisis de errores de medición. Esto se puede repetir dentro de las simulaciones y ayuda a identificar los intervalos de concentración donde el ajuste puede estar sesgado, es decir, la curva se desvía en la misma dirección. Este análisis asegura que los modelos elegidos no estén sesgados localmente, ni la solidez con respecto a las fluctuaciones en la medición sea insuficiente.

La variabilidad de los datos de las mediciones prácticas es difícil de capturar por completo mediante simulaciones, puesto que la función seleccionada en el algoritmo demuestra preferentemente con datos del mundo real una determinada cantidad de solidez. Para examinar la solidez, la simulación es, de nuevo, un procedimiento de elección. Se comenzó, de nuevo, como se describe anteriormente, pero ahora se incrementa el tamaño del ruido que se ha añadido a la señal. Si el ruido excede determinados niveles, se pueden observar más y más ajustes fallidos. Esto ilustra muy fácilmente la solidez en el campo. Además, para la generación de ruido aleatorio, están disponibles dos modelos de error diferentes. El modelo de error estadísticamente independiente es una variante muy conservadora y sólida, porque el ruido de diferentes calibradores no está correlacionado. El segundo modo usa la correlación real de errores analizando las señales de un conjunto, >10, de diferentes curvas de calibración. El último procedimiento permite predicciones reales con respecto al rendimiento y el primer modelo significa una fuerza incrementada para el algoritmo.

Un ejemplo concreto de una fórmula de calibración que es sólida es la ecuación 1, que se puede usar con el ensayo de CRP analizado previamente.

Los ejemplos de la función de calibración pueden tener la ventaja de proporcionar una calibración válida en un gran intervalo de medición y también discriminar entre el error de medición y del modelo. Para cumplir con los complicados requisitos médicos en el diseño del ensayo, el procedimiento de detección puede tener diferentes procesos bioquímicos. Así, por ejemplo, los diferentes tamaños de las partículas de látex del ensayo de CRP de están implicados en la misma formulación de ensayo para detectar concentraciones bajas y altas de CRP, respectivamente. Este diseño da lugar a curvas de calibración para el ensayo que son diferentes en las diferentes pautas de concentración y constituyen un inconveniente para el procedimiento clásico de detección única que modela funciones matemáticas usadas en calibraciones no lineales. Como consecuencia, a menudo estos ensayos se ajustan mediante funciones *spline*, que tienen desventajas inherentes bien conocidas. En particular, en cuanto al modelo de *spline* no global, que cubre todo el intervalo de medición, la función existe en la calibración, no pudiéndose realizar ninguna distinción entre el error de medición, en la señal del calibrador, y un error del modelo. Los procedimientos de detección de errores que se podrían implementar con el enfoque del modelo global no lineal no son factibles para el modelo de *spline*. Los ejemplos pueden usar funciones matemáticas no lineales diseñadas específicamente que permiten un excelente ajuste basado en el modelo de toda la medición, cubriendo, de este modo, múltiples procedimientos de detección. Para los ejemplos particulares del ensayo de CRP, que se basa en dos tamaños de partículas de látex y usa dos procedimientos de detección en la misma formulación de ensayo, se ha demostrado que la superposición específica de dos funciones de decaimiento exponencial permite un ajuste perfecto de la curva de calibración que se compone de una curva y una sección más o menos recta.

20 Lista de números de referencia

- 300 eje x
- 302 eje y
- 25 304  $y(x) = 1 - \text{Exp}(-x)$
- 306  $y(x) = 1 - \text{Exp}(-5x)$
- 30 308  $y(x) = 2 - \text{Exp}(-x) - \text{Exp}(-5x)$
- 400 analizador automático
- 404 muestra biológica
- 35 406 distribuidor
- 408 ensayo
- 40 410 módulo de medición
- 412 ordenador
- 414 interfaz de equipo informático
- 45 416 procesador
- 418 interfaz de usuario
- 50 420 almacenamiento informático
- 422 memoria informática
- 430 valores para propiedad intensiva de muestras de calibración
- 55 432 señales de calibración para muestras de calibración
- 434 calibración
- 60 436 señal
- 438 valor que representa una propiedad intensiva
- 440 módulo de control
- 65 442 módulo de ajuste de la curva

444 módulo de determinación de propiedades intensivas

## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de análisis de una muestra biológica (404) usando un analizador (400) y un ensayo (408), en el que se hace funcionar el analizador para medir una señal (436) indicativa de una propiedad intensiva (438) de un analito en la muestra biológica, en el que la propiedad intensiva es una concentración del analito, en el que el analizador comprende un módulo de medición fotométrica que se hace funcionar para medir la señal, y en el que la señal es al menos una parte de un espectro de transmisión fotométrica, en el que el procedimiento comprende:
- proporcionar (100) el ensayo, en el que se hace funcionar el ensayo para producir la señal, en el que el ensayo tiene un número predeterminado de componentes, en el que el número predeterminado de componentes es dos, en el que cada uno del número predeterminado de componentes tiene una relación distinta entre la propiedad intensiva y la señal, en el que cada uno del número predeterminado de componentes es un ensayo distinto;
  - proporcionar (102, 200) un número establecido de muestras de calibración con valores conocidos (430) para la propiedad intensiva, en el que el número establecido es dos veces el número predeterminado de componentes más uno, dos, tres, cuatro o cinco;
  - medir (104, 202) una señal de calibración (432) para cada una de las muestras de calibración usando el analizador y el ensayo;
  - determinar (106, 206) una calibración (434) ajustando una función de calibración a la señal de calibración para cada una de las muestras de calibración y los valores conocidos para la propiedad intensiva, en el que la función de calibración es equivalente a una constante más un término de decaimiento exponencial para cada uno del número predeterminado de componentes, en el que la función de calibración es una suma de dos términos de decaimiento exponencial, en el que cada término de decaimiento exponencial tiene dos parámetros de calibración;
  - medir (108, 208) la señal (436) de la muestra biológica usando el analizador y el ensayo; y
  - calcular (110, 210) la propiedad intensiva usando la señal y la calibración.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la señal comprende además una cualquiera de las siguientes: una medición electroquímica, una medición de quimioluminiscencia, una medición nefelométrica, una medición de desintegración radioactiva, una medición de dispersión fotométrica y combinaciones de las mismas.
3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que la concentración molecular es la concentración molecular de proteína C-reactiva, en el que el número predeterminado de componentes es dos, en el que el número predeterminado de componentes comprende partículas de primer tamaño y partículas de segundo tamaño, en el que las partículas de primer tamaño son de aproximadamente 130 nm de diámetro y están recubiertas con anticuerpo monoclonal murino, y en el que las partículas de segundo tamaño son de aproximadamente 220 nm y están recubiertas con anticuerpo monoclonal murino con afinidad diferente.
4. El procedimiento de la reivindicación 1, 2 o 3, en el que el analizador es un analizador automático.
5. Un analizador automático (400) para analizar una muestra biológica (404), en el que se hace funcionar el analizador para medir una señal (436) descriptiva de una propiedad intensiva (438) de un analito en la muestra biológica usando un ensayo (408), en el que la propiedad intensiva es una concentración del analito, en el que el analizador comprende un módulo de medición fotométrica que se hace funcionar para medir la señal, y en el que la señal es al menos una parte de un espectro de transmisión fotométrica, en el que se hace funcionar el analizador automático para recibir el ensayo, en el que el ensayo tiene un número predeterminado de componentes, en el que el número predeterminado de componentes es dos, en el que cada uno del número predeterminado de componentes tiene una relación distinta entre la propiedad intensiva y la señal, en el que cada uno del número predeterminado de componentes es un ensayo distinto, en el que el analizador automático comprende una memoria para almacenar instrucciones ejecutables por máquina, en el que el analizador automático comprende un procesador (416) para controlar el analizador automático, en el que la ejecución de las instrucciones provoca que el procesador:
- recibir (102, 200) un número establecido de muestras de calibración con valores conocidos (430) para la propiedad intensiva usando el analizador y/o recibir información de parámetros descriptiva de una calibración, en el que el número establecido es dos veces el número predeterminado de componentes más uno dos, tres, cuatro o cinco,
  - medir (104, 202) una señal de calibración para cada una de las muestras de calibración usando el analizador y el ensayo;
  - determinar (106, 206) la calibración ajustando una función de calibración a la señal de calibración para cada una de las muestras de calibración y los valores conocidos para la propiedad intensiva y/o la información de parámetros;
  - recibir (106) la calibración (434), en el que la calibración se define mediante la función de calibración, en el que la

## ES 2 768 198 T3

función de calibración es equivalente a una constante más un decaimiento exponencial para cada uno de los componentes predeterminados, en el que la función de calibración es una suma de dos términos de decaimiento exponencial, en el que cada término de decaimiento exponencial tiene dos parámetros de calibración;

- 5 - añadir el ensayo a la muestra biológica usando el analizador automático;
- medir (108, 208) la señal de la muestra biológica usando el analizador automático; y
- 10 - calcular (110, 210) la propiedad física usando la señal y la calibración.

6. El analizador automático de la reivindicación 5, en el que el analizador automático comprende el ensayo.

7. El analizador automático de la reivindicación 5 o 6, en el que la señal comprende además una cualquiera de las siguientes: una medición electroquímica, una medición de quimioluminiscencia, una medición nefelométrica, una medición de desintegración radioactiva, una medición de dispersión fotométrica y combinaciones de las mismas.

8. El analizador automático de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que la concentración es la concentración de proteína C-reactiva, en el que el número predeterminado de componentes es dos, en el que el número predeterminado de componentes comprende partículas de primer tamaño y partículas de segundo tamaño, en el que las partículas de primer tamaño son de aproximadamente 130 nm de diámetro y están recubiertas con un anticuerpo monoclonal murino, y en el que las partículas de segundo tamaño son de aproximadamente 220 nm y están recubiertas con un anticuerpo monoclonal murino con afinidad diferente.

FIG. 1

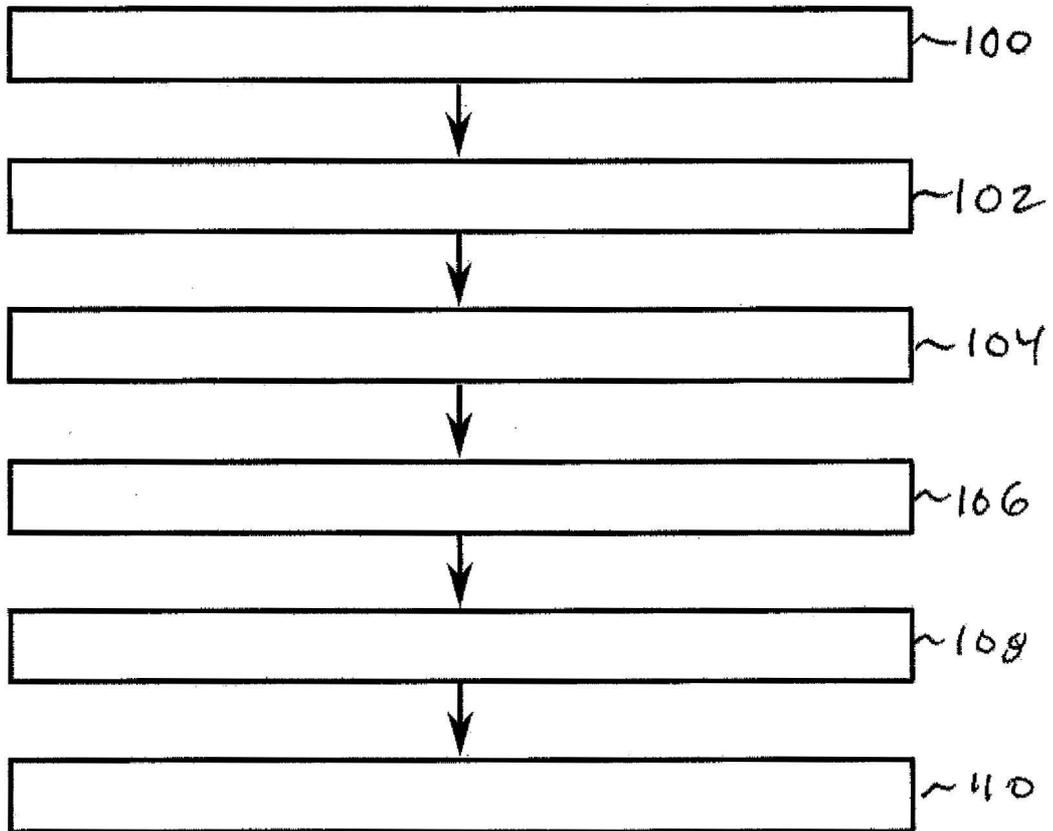


FIG. 2

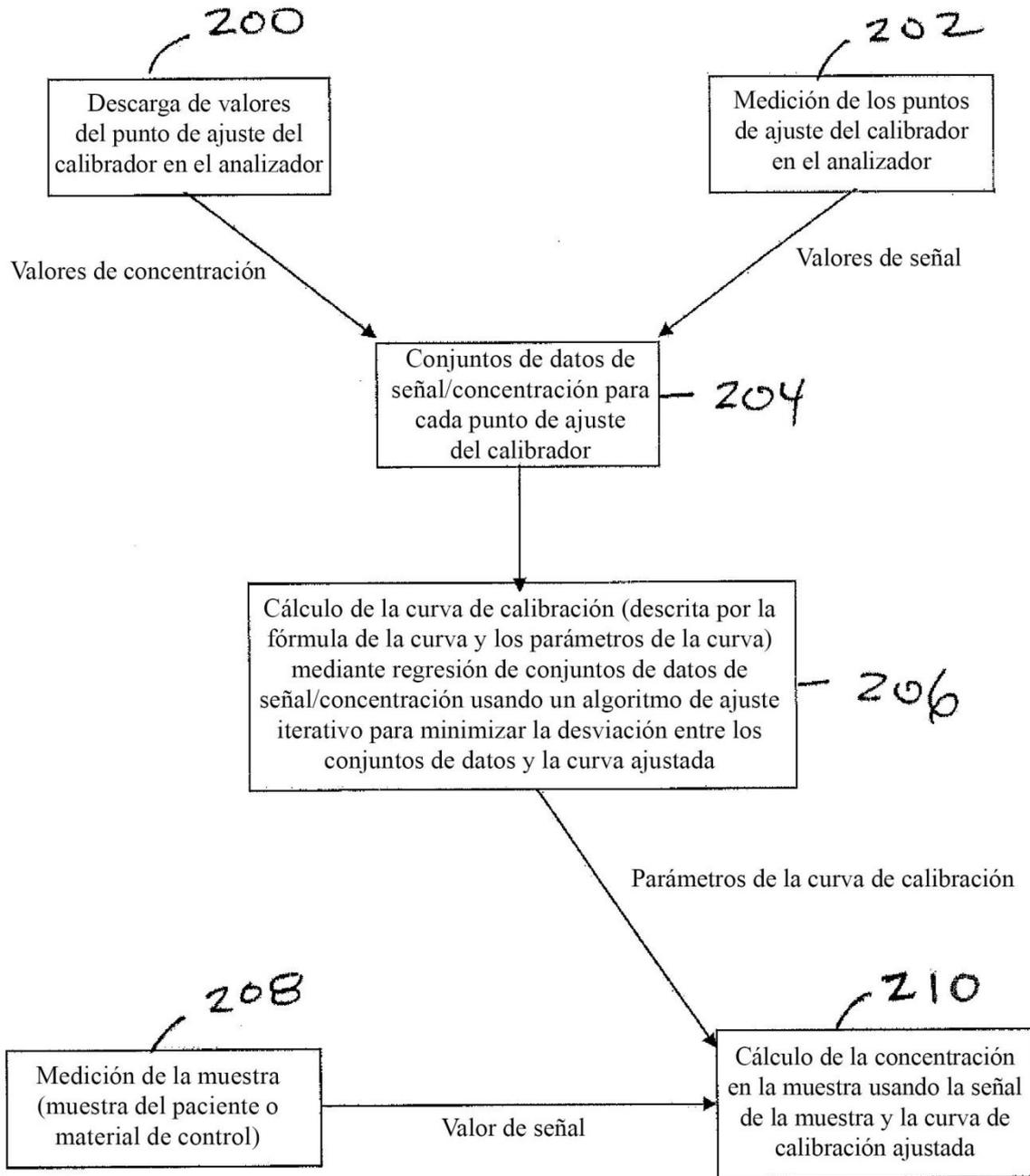


FIG. 3

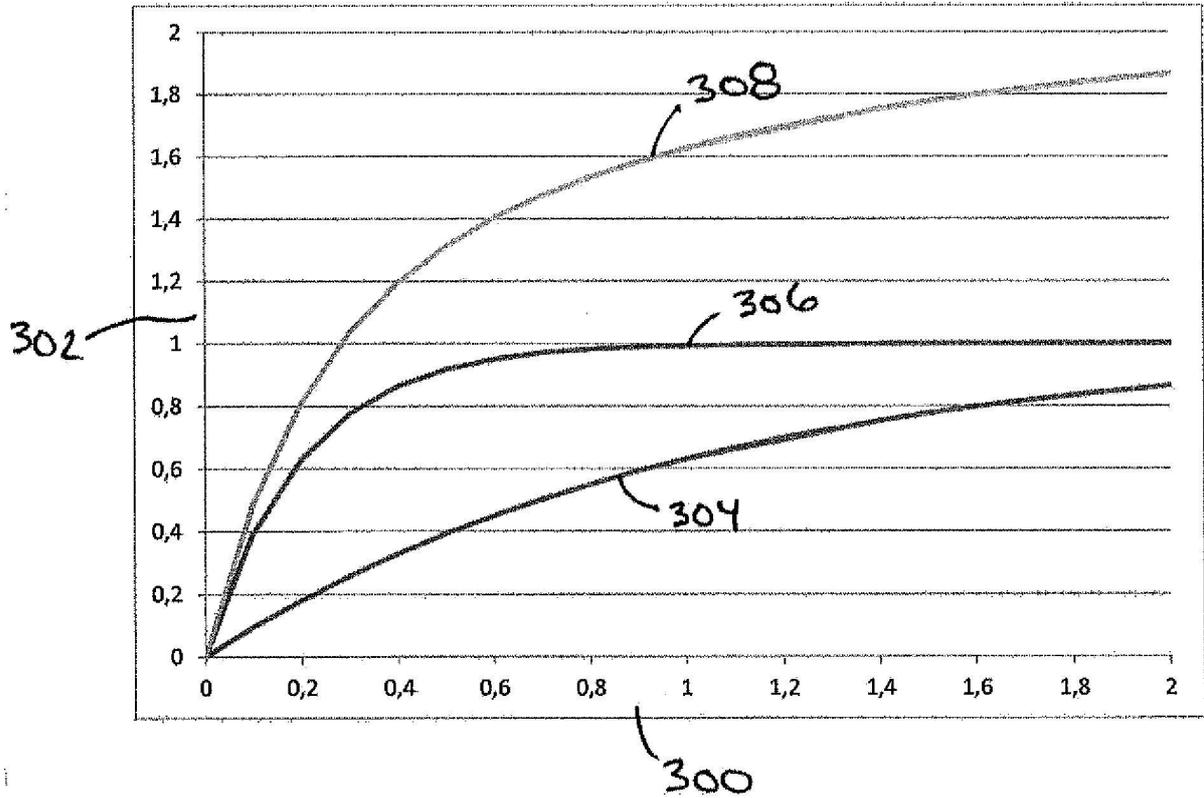


FIG. 4

