

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 563**

51 Int. Cl.:

A61B 5/00 (2006.01)

A61M 5/172 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04788658 .5**

96 Fecha de presentación: **10.09.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1662987**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.06.2006**

54 Título: **DISPOSITIVO MÉDICO PARA LA MONITORIZACIÓN DE ANALITOS Y LA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS.**

30 Prioridad:
11.09.2003 US 501847 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.02.2012

73 Titular/es:
**THERANOS, INC.
1430 O'BRIEN DRIVE, SUITE H
MENLO PARK, CA 94025, US**

72 Inventor/es:
**HOLMES, Elizabeth A.;
ROY, Shaunak;
HOWARD, John y
WANG, Chengwang**

74 Agente: **Curell Aguilá, Mireya**

ES 2 374 563 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

Dispositivo médico para la monitorización de analitos y la administración de fármacos.

5 Antecedentes de la invención**1. Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a los campos del diagnóstico y la administración de fármacos. Más particularmente, se refiere a dispositivos médicos y a procedimientos que pueden monitorizar los niveles de un analito de líquido corporal y opcionalmente, liberar agentes terapéuticos apropiados.

2. Antecedentes

15 Los dispositivos de "centro de atención" que pueden detectar actividad de macromoléculas biológicas o niveles de concentración de fármacos tienen una gran demanda porque eliminan la necesidad de las visitas al laboratorio del paciente, proporcionando así ahorros tanto de tiempo como de costes. Uno de los aspectos más valiosos de la tecnología moderna de micromatrices es la capacidad para detectar la disfunción, malformación o mutación de macromoléculas biológicas, que dan como resultado la enfermedad. Sin embargo, esta capacidad no se ha
20 aprovechado por completo porque dichas matrices no se han incorporado en dispositivos de centro de atención ingeribles, implantables o que puedan llevarse puestos. La tecnología moderna de micromatrices se limita a la caracterización de macromoléculas biológicas y sus metabolitos mediante el análisis de analitos inmovilizados estabilizados sobre portaobjetos que han de insertarse en una máquina o analizarse manualmente fuera de los organismos vivos. El documento US 2003/0049833 A describe un dispositivo de detección de analitos que
25 comprende una microaguja para obtener una muestra de líquido corporal, una primera entrada para transferir líquido corporal de la microaguja al microcanal, y que comprende un agente bioactivo adaptado para interactuar con el analito, un dispositivo de exploración de micromatrices.

30 Dado que la sangre completa contiene células, plaquetas y una multitud de proteínas y otras macromoléculas, los análisis que implican sangre requieren normalmente un procesamiento previo de la muestra para eliminar estos componentes. La integración de etapas de procesamiento previo en un dispositivo de centro de atención hace que suba el coste del propio dispositivo, haciendo así que la utilización del dispositivo sea económicamente inviable. Por ejemplo, algunos dispositivos actualmente en el mercado utilizan sangre completa en sus análisis; entre otros son el sistema Reflotron™ de Boehringer Mannheim de medición de analitos transportados por la sangre (lo más
35 notablemente colesterol) y el sistema iStat™ (iStat Inc.), que realiza varios análisis de atención crítica, incluyendo electrolitos, bioquímicas generales, gasometría y hematología. El sistema Reflotron™ se basa en tecnología de química seca en la que se inmovilizan enzimas u otros elementos reactivos en la superficie de una tira reactiva. El análisis es un análisis de actividad calorimétrica en el que la reacción produce un cambio de color y es por tanto indicativo de la cantidad de analito presente. El sistema iStat™ se basa en detección electroquímica para producir
40 una señal. En cualquier caso, se extrae una muestra de sangre por separado (normalmente mediante una punción en el dedo) y luego se coloca en el chip (o cartucho en el caso del sistema iStat), en el que se produce la reacción y se analiza por una unidad de detección externa. Estos sistemas de monitorización existentes son insuficientes e inconvenientes ya que habitualmente requieren que el usuario se realice una punción a sí mismo y múltiples etapas para obtener un resultado. Como tal, existe la necesidad de un dispositivo que pueda llevarse puesto que pueda
45 monitorizar repetida, automática y exactamente líquidos corporales tales como sangre.

Los dispositivos de centro de atención también son útiles en determinadas situaciones en las que muestras biológicas sistémicas tales como sangre, orina o heces, no pueden proporcionar información adecuada en cuanto a cambios moleculares sutiles en el sitio de enfermedad. En tal caso, aunque el médico podría ubicar con precisión el
50 sitio exacto de una dolencia, sólo se llega a obtener una muestra biológica para análisis con gran riesgo, dolor y gastos para el paciente. Adicionalmente, sería deseable un dispositivo de centro de atención en el que la administración sistémica de agentes farmacológicos, tales como por vías transdérmica o intravenosa, trata el organismo en su conjunto aunque la enfermedad que ha de tratarse pueda estar localizada. En este caso, puede no ser deseable la administración sistémica debido a que los agentes farmacológicos a menudo presentan efectos no
55 deseados en partes del cuerpo que no pretenden tratarse, o porque el tratamiento de la parte del cuerpo enferma requiere una alta concentración de agente farmacológico que puede no conseguirse mediante la administración sistémica. Por ejemplo, cuando se administran a un paciente de manera sistémica, algunos fármacos (por ejemplo, fármacos quimioterápicos tales como los utilizados para tratar el cáncer y otros trastornos proliferativos) pueden producir efectos secundarios no deseados. Por tanto, a menudo es deseable detectar la enfermedad y administrar
60 agentes farmacológicos en sitios localizados dentro del organismo.

Como tal, existe una demanda de dispositivos de centro de atención que puedan detectar actividad de macromoléculas biológicas o niveles de concentración de fármacos que también puedan administrar un agente terapéutico específico en un sitio localizado dentro del organismo en respuesta a cambios en la actividad de
65 macromoléculas biológicas o niveles de concentración de fármacos.

Sumario de la invención

- Un aspecto de la invención se refiere a un dispositivo médico que comprende una micromatriz que comprende un agente bioactivo que puede interactuar con un analito biológico marcador de enfermedad; un depósito que comprende al menos un agente terapéutico y que puede liberar el/los agente(s) terapéutico(s) desde el dispositivo médico; y una pluralidad de microchips que comprenden un dispositivo de exploración de micromatrices que puede obtener datos de parámetros físicos de una interacción entre el analito biológico marcador de enfermedad con el agente bioactivo; un dispositivo de reconocimiento biométrico que puede comparar los datos de parámetros físicos con un perfil de interacción de analitos; un dispositivo de liberación de agente terapéutico que puede controlar la liberación del agente terapéutico desde los depósitos; un dispositivo de interfaz que puede facilitar las comunicaciones entre el dispositivo de exploración de micromatrices, el dispositivo de reconocimiento biométrico y el dispositivo de liberación de agente terapéutico; y una fuente de energía para alimentar el dispositivo médico.
- En una forma de realización de este aspecto de la invención, el dispositivo está recubierto y el recubrimiento es un polímero bioestable que puede presentar canales. En otra forma de realización de este aspecto de la invención, el polímero es poroso.
- En una forma de realización diferente, se transportan líquidos corporales a través de carriles microfluídicos que mueven moléculas por medio de diferencias de presión con respecto a la micromatriz. En una forma de realización, se utiliza una bomba osmótica para propulsar los líquidos a través de la parte superior del dispositivo. En otra forma de realización, se impulsa el transporte de líquido mediante corrientes eléctricas naturales en el organismo conducidas a través de la tecnología de red de área personal.
- Aún en otra forma de realización de este aspecto de la invención, la micromatriz comprende microperlas. En otra forma de realización, el agente bioactivo es un ácido nucleico. Aún en otra forma de realización, el agente bioactivo es un polipéptido. Aún en otra forma de realización, el agente bioactivo es una inmunoglobulina.
- En una forma de realización adicional de los dispositivos médicos de la invención, el agente bioactivo se marca de forma fluorescente. En otra forma de realización, el agente bioactivo se marca de forma fluorescente con un nanocrystal.
- Aún en otra forma de realización, el analito biológico marcador de enfermedad es un ácido nucleico. En una forma de realización adicional, el analito biológico marcador de enfermedad es un polipéptido. En otra forma de realización, el analito biológico marcador de enfermedad es una inmunoglobulina.
- Aún en una forma de realización adicional, la pluralidad de microchips comprende silicio-germanio.
- En otra forma de realización, el dispositivo de exploración de micromatrices comprende elementos de fibra óptica.
- En una forma de realización adicional, el perfil de interacción de analitos se almacena en el dispositivo de reconocimiento biométrico. En una forma de realización alternativa, el perfil de interacción de analitos se almacena de manera externa al dispositivo médico.
- En otra forma de realización, el dispositivo médico presenta una pluralidad de depósitos. En una forma de realización adicional, el dispositivo de interfaz comprende una red de área personal.
- En una forma de realización adicional, la fuente de energía es una batería. En una forma de realización alternativa, la fuente de energía se proporciona mediante una red de área personal.
- Otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de detección y a un tratamiento de una enfermedad en un paciente que comprende administrar al paciente un dispositivo médico recubierto que comprende una micromatriz que comprende un agente bioactivo que puede interactuar con un analito biológico marcador de enfermedad; al menos un depósito que comprende al menos un agente terapéutico y que puede liberar el al menos un agente terapéutico desde el dispositivo médico; una pluralidad de microchips que comprenden un dispositivo de exploración de micromatrices que puede obtener datos de parámetros físicos de una interacción entre el analito biológico marcador de enfermedad con el agente bioactivo; un dispositivo de reconocimiento biométrico que puede comparar los datos de parámetros físicos con un perfil de interacción de analitos; un dispositivo de liberación de agente terapéutico que puede controlar la liberación del agente terapéutico desde el depósito; y un dispositivo de interfaz que puede facilitar las comunicaciones entre el dispositivo de exploración de micromatrices, el dispositivo de reconocimiento biométrico y el dispositivo de liberación de agente terapéutico; una fuente de energía para alimentar el dispositivo médico; y un recubrimiento biocompatible que permite que se trague el dispositivo médico, pase a través del tracto intestinal del paciente y se excrete de manera natural.
- En una forma de realización del procedimiento, el recubrimiento es un polímero bioestable que puede presentar canales. En otra forma de realización, el polímero es poroso.

Aún en otra forma de realización del procedimiento, la micromatriz comprende microperlas. En otra forma de realización, el agente bioactivo es un ácido nucleico. Aún en otra forma de realización, el agente bioactivo es un polipéptido. Aún en otra forma de realización, el agente bioactivo es una inmunoglobulina.

5 En una forma de realización adicional del procedimiento de la invención, el agente bioactivo se marca de forma fluorescente. En otra forma de realización, el agente bioactivo es uno marcado de forma fluorescente con un nanocristal.

10 Aún en otra forma de realización del procedimiento, el analito biológico marcador de enfermedad es un ácido nucleico. En una forma de realización adicional, el analito biológico marcador de enfermedad es un polipéptido. En otra forma de realización, el analito biológico marcador de enfermedad es una inmunoglobulina.

15 Aún en una forma de realización adicional del procedimiento, la pluralidad de microchips comprende silicio-germanio.

En otra forma de realización del procedimiento, el dispositivo de exploración de micromatrices comprende elementos de fibra óptica.

20 En una forma de realización adicional del procedimiento, el perfil de interacción de analitos se almacena en el dispositivo de reconocimiento biométrico. En una forma de realización alternativa, el perfil de interacción de analitos se almacena de manera externa al dispositivo médico.

25 En otra forma de realización del procedimiento utiliza una pluralidad de depósitos. En una forma de realización adicional del procedimiento, el dispositivo de interfaz comprende una red de área personal.

En una forma de realización adicional del procedimiento, la fuente de energía es una batería. En una forma de realización alternativa, la fuente de energía se proporciona mediante una red de área personal.

30 En una forma de realización adicional del procedimiento, se monitorizan las comunicaciones mediante un ordenador externo. En otra forma de realización, el ordenador externo dirige la liberación del agente terapéutico.

35 Otro aspecto de la invención se refiere a un dispositivo médico que puede detectar un analito en un líquido corporal que comprende al menos una microaguja que puede obtener una muestra de un líquido corporal, un primer microcanal a través del que fluye la muestra y está en comunicación fluidica con la al menos una microaguja, un segundo microcanal en comunicación fluidica con el primer microcanal, a través del que fluye un tampón, en el que el segundo canal comprende una micromatriz con un agente bioactivo, un dispositivo de exploración de micromatrices para detectar una interacción entre el agente bioactivo y el analito en el líquido corporal; y un dispositivo de interfaz que puede facilitar las comunicaciones entre dicho dispositivo de exploración de micromatrices y un dispositivo de reconocimiento biométrico.

40 En una forma de realización, el líquido corporal es sangre. En otra forma de realización, la al menos una microaguja es una pluralidad de microagujas. Aún en otra forma de realización la microaguja es de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 200 micras de diámetro. En una forma de realización adicional, la microaguja puede extraer aproximadamente 100 microlitros de sangre. En otra forma de realización, el primer microcanal es de aproximadamente 100 micrómetros de diámetro. En una forma de realización adicional, el segundo microcanal es aproximadamente 100 micrómetros de diámetro.

45 Todavía en una forma de realización adicional, el analito en el líquido corporal que fluye a través del primer microcanal difunde hacia el segundo microcanal e interacciona con el agente bioactivo. En otra forma de realización, el analito en el líquido corporal que fluye a través del primer microcanal difunde hacia el segundo microcanal y desplaza de manera competitiva al analito marcado de unirse al agente bioactivo. En una forma de realización adicional, el analito marcado se proporciona en una cantidad predeterminada. En otra forma de realización, el analito marcado se marca con un grupo fluorescente. Aún en otra forma de realización, la micromatriz es una parte del segundo microcanal que presenta un recubrimiento de un anticuerpo que se une específicamente al analito en el líquido corporal. En una forma de realización adicional, el dispositivo de exploración de micromatrices comprende un espectrómetro de fluorescencia de reflexión interna total (TIRF).

50 En otra forma de realización de este aspecto de la invención, el dispositivo de reconocimiento biométrico está ubicado fuera del dispositivo y la comunicación es a través de transmisión inalámbrica. En otra forma de realización, el analito es insulina y el agente bioactivo es un anticuerpo específico para insulina. Aún en una forma de realización adicional, el analito es glucosa y el agente bioactivo es un anticuerpo específico para glucosa. Todavía en otra forma de realización, el dispositivo es para llevarse puesto sobre la piel como un parche.

55 En una forma de realización adicional de este aspecto de la invención, el analito es indicativo de enfermedad.

60

65

En otra forma de realización de este aspecto de la invención, el dispositivo médico comprende además un depósito que presenta un agente terapéutico en el mismo y un dispositivo de liberación de agente terapéutico, que puede controlar la liberación de un agente terapéutico desde un depósito en respuesta a una instrucción desde el dispositivo de reconocimiento biométrico. En otra forma de realización, el analito es glucosa y el agente terapéutico es insulina. En una forma de realización adicional, el analito y el agente terapéutico son el mismo.

En otra forma de realización de este aspecto de la invención, el dispositivo médico presenta al menos un dispositivo de análisis desechable que comprende dicha al menos una microaguja, el primer microcanal y el segundo canal y presenta un dispositivo lector de análisis no desechable que comprende el dispositivo de exploración de micromatrices, el dispositivo de interfaz. En una forma de realización adicional, el dispositivo de análisis y el dispositivo lector de análisis están en comunicación óptica entre sí. Aún en una forma de realización adicional existe una pluralidad de dispositivos de análisis desechables acoplados en un único dispositivo lector de análisis.

En otra forma de realización, la micromatriz comprende una parte no revestida de fibra óptica de vidrio individual funcionalizada con el agente bioactivo en la que la parte no revestida de fibra óptica de vidrio individual está en contacto de fluido con el segundo microcanal. Alternativamente, la micromatriz puede comprender una pluralidad de partes no revestidas de fibras ópticas de vidrio individuales funcionalizadas con el agente bioactivo en la que las partes no revestidas de fibras ópticas de vidrio individuales están en contacto de fluido con el segundo microcanal.

Resultarán evidentes inmediatamente ventajas adicionales de la presente invención para los expertos en la materia a partir de la siguiente descripción detallada, en la que sólo se muestra y se describe la realización preferida de la invención, simplemente a modo de ilustración del mejor modo contemplado de llevar a cabo la invención. Tal como se observará, la invención puede presentar otras y diferentes formas de realización, y sus detalles varios pueden presentar modificaciones en diversos aspectos obvios, sin apartarse, por ello, de la invención. La presente invención puede ponerse en práctica sin algunos o sin todos estos detalles específicos. En otros casos, no se han descrito en detalle las operaciones de procesos bien conocidos, con el fin de no confundir innecesariamente la presente invención. Por consiguiente, los dibujos y la descripción han de considerarse como de naturaleza ilustrativa, y no restrictiva.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un dibujo esquemático de un dispositivo médico a modo de ejemplo de la invención. El dispositivo presenta un recubrimiento de polímero bioestable 1 así como una bomba osmótica, en esta realización preferida, 2 para facilitar el movimiento de líquido a través del recubrimiento poroso 3 del dispositivo. El dispositivo comprende una micromatriz 4 que comprende un agente bioactivo que puede interactuar con un analito biológico marcador de enfermedad; un depósito 10 que comprende un agente terapéutico y que puede liberar el agente terapéutico desde el dispositivo médico; y una pluralidad de microchips 5, 7, 8, 9, 6, 10, 12, 13 y 14 que comprenden; un dispositivo de exploración de micromatrices 7 que puede obtener datos de parámetros físicos de una interacción entre el analito biológico marcador de enfermedad con el/los agente(s) bioactivo(s); un dispositivo de reconocimiento biométrico 9 que puede comparar los datos de parámetros físicos con un perfil de interacción de analitos; un dispositivo de liberación de agente terapéutico 10 que puede controlar la liberación de agente(s) terapéutico(s) desde una pluralidad de depósitos y puntos de verificación 13 y 14; y un dispositivo de interfaz 8 que puede facilitar las comunicaciones entre el dispositivo de exploración de micromatrices 7, el dispositivo de reconocimiento biométrico 9 y el dispositivo de liberación de agente terapéutico 10; y una fuente de energía para alimentar el dispositivo médico 15. Adicionalmente, el dispositivo a modo de ejemplo contiene transmisores para una red de área personal 5 y 6 y trayectorias de transmisión para la comunicación entre la PAN y un monitor 15 de ordenador portátil o red de ordenador externo 16. Adicionalmente, el dispositivo a modo de ejemplo contiene un compartimento 11 para el mezclado de agentes terapéuticos antes de la liberación.

La figura 2 ilustra el dispositivo de la invención en su realización de parche externo. Se lleva puesto sobre la piel y puede liberar un agente terapéutico. Adicionalmente, puede interconectarse con una red externa.

La figura 3 ilustra una pluralidad de dispositivos médicos, en este caso en forma de parches, en comunicación inalámbrica con un servidor externo. El servidor externo puede contener un dispositivo de reconocimiento biométrico y una base de datos farmacocinética de parámetros físicos de la interacción entre un agente bioactivo y un analito.

La figura 4 (a) la microaguja de 100 micrómetros de diámetro es de aproximadamente el diámetro del pelo humano. (b) Una matriz de microagujas de silicio.

La figura 5 (a) ilustra diversas vistas del dispositivo de la invención en su realización 100 de parche. El parche a modo de ejemplo es de 2 cm de longitud y de 0,5 cm de anchura. También presenta un grosor de aproximadamente 1,5 mm. El parche contiene una pluralidad de microagujas 12 (b) Ilustra las características internas del dispositivo de parche. El dispositivo presenta un depósito 13 al interior del cual se bombea sangre desde las microagujas 12, un segundo depósito que contiene un tampón 14 y un microcanal 15 común para flujo laminar que es la confluencia de una entrada de tampón 15a y una entrada de sangre 15b, así como un receptáculo 16 para desechos. Adicionalmente, la figura muestra que el dispositivo puede separarse en dos componentes: una capa desechable

que presenta microagujas, microcanales y una micromatriz 100a y una parte no desechable 100b en comunicación óptica con la parte desechable que presenta el dispositivo de exploración de micromatrices y otros componentes electrónicos.

5 La figura 6 (a) ilustra cómo el parche 100 puede envasarse antes de la aplicación a un paciente. El parche puede estar cubierto con una capa protectora 17 y presentan una base 18 de parche a través de la que penetrarán las microagujas tras la aplicación. La base 18 proporciona el beneficio añadido de mantener la esterilidad de las microagujas antes de la aplicación. Un adhesivo 19 sirve para sujetar el parche a la piel del sujeto. Adicionalmente, se proporciona una cubierta 20 protectora que se retira para exponer la capa adhesiva 19.

10 La figura 7 ilustra cómo puede aplicarse simultáneamente una pluralidad de parches 100 a un paciente. Una pluralidad de parches de este tipo puede entonces activarse secuencialmente para proporcionar la detección de analitos durante un periodo de tiempo prolongado.

15 La figura 8 (a) Vista lateral de un microcanal 15 de flujo laminar a modo de ejemplo en el que se alimenta sangre hacia una entrada 15b de un microcanal de dos entradas. La sangre contiene células 21, una variedad de proteínas 25, y los analitos 22 que van a medirse. Los líquidos fluyen en corrientes paralelas pasando las moléculas a través de la superficie de contacto sólo por difusión. Tal como se muestra en (b), sólo los analitos 22 de molécula pequeña alcanzan la pared opuesta en la que tiene lugar un intercambio de equilibrio con moléculas 24 de analito marcadas de forma fluorescente unidas previamente a agentes 23 bioactivos en la superficie. En este ejemplo, la pared del canal recubierta con agentes 23 bioactivos constituye la micromatriz.

20 La figura 9 muestra el concepto de un campo evanescente que surge durante la reflexión interna total. El campo evanescente se extiende no más de una longitud de onda más allá del medio en el que está desplazándose el haz luminoso.

25 La figura 10 ilustra cómo una fibra óptica 26 utiliza fluorescencia de reflexión interna total para detectar cambios en la fluorescencia indicativos de una interacción entre un agente bioactivo y un analito que se producen en la micromatriz. La fibra óptica puede presentar múltiples configuraciones. Por ejemplo, puede discurrir en paralelo a lo largo de la longitud del canal 15 de flujo laminar. Alternativamente, una pluralidad de fibras puede terminar en el canal y estar ellas mismas recubiertas con el agente bioactivo. Los microcanales primero 15a y segundo 15b están en comunicación fluidica entre sí. Sólo las moléculas pequeñas difundirán a través de la superficie de contacto difusional hasta la micromatriz, es decir, superficie de sensor funcionalizada. La detección fluorescente mediante un espectrómetro TIRF no se extiende más allá de una longitud de onda más allá de la superficie.

30 La figura 11 ilustra una fibra óptica 26 que es parte de una micromatriz. La fibra óptica presenta una parte revestida 31 y una no revestida 27. La parte no revestida distal 27 está funcionalizada con un agente bioactivo que interacciona con un analito diana en el líquido corporal que está sometiéndose a análisis. El extremo proximal de la fibra 26 está en comunicación óptica con una parte del dispositivo de exploración de micromatrices. Este contacto se facilita mediante un conector 28. Más allá del conector una entrada dirige luz hasta el divisor 31 de fibras que dirige la luz que retorna a través de la fibra hasta un detector tal como un detector 30 de fotodiodo. Tal como se analiza en otra parte, la parte no revestida funcionalizada de la fibra 27 puede constituir una parte de la pared del microcanal 15 de flujo laminar o una pluralidad de fibras puede adentrarse en el canal 15.

35 La figura 12 ilustra una parte a modo de ejemplo de una micromatriz y un dispositivo de exploración de micromatrices que utiliza un sensor TIRF. Se dirige la luz láser incidente desde un láser 33 a través de una fibra multimodal 26 y el tramo de salida de un divisor 31 de fibras ópticas 50:50 sobre la fibra no revestida funcionalizada 27. En el caso de un análisis, el analito marcado con fluoróforo desplazó el agente bioactivo mediante un proceso de unión competitiva que resulta de la presencia del analito en el líquido corporal, y como resultado se reduce la energía fotónica acoplada en la fibra en la onda evanescente. Esta reducción en la intensidad de la luz se detecta mediante el fotodiodo y amplificador asociado. La característica de fluorescencia emitida de la interacción entre un analito 22 y un agente 23 bioactivo se acopla de vuelta en la fibra y se propaga hacia el detector 30 con poca interferencia de la luz láser. Un láser acoplado a una fibra proporciona luz a 660 nm. En un ejemplo, el sistema funciona con o bien una fibra funcionalizada de núcleo de 200 μm y divisor o bien una fibra funcionalizada de núcleo de 62,5 μm y divisor. El diámetro del núcleo de la fibra es igual para todo el sistema. En el sistema de núcleo de o bien 62,5 o bien 200 μm , se excitan modos de orden superior de la fibra (los bordes del núcleo) tanto para maximizar la energía de la onda evanescente como para hacer que el acoplador 1x2 funcione de manera más uniforme. Esto es diferente basándose en el diámetro del núcleo de la fibra.

40 La figura 13 ilustra la fluorescencia y absorbancia del fluoróforo Atto 655.

La figura 14 es una imagen de un dispositivo lector de análisis modelo que se lleva puesto en el brazo humano.

45 La figura 15 es una imagen de una convergencia de dos en un microcanal de una corriente de PBS que fluye a 0,1 $\mu\text{l/s}$ y una corriente de sangre a 0,02 $\mu\text{l/min}$. Visualmente, existe poco mezclado entre las corrientes en la superficie

de contacto difusional. Sin embargo, las moléculas con mayores coeficientes de difusión atravesarán la superficie de contacto difusional.

La figura 16 es una imagen de los coeficientes de difusión de células, albúmina sérica bovina y vancomicina.

La figura 17 es una ilustración de un dispositivo de la invención a modo de ejemplo. A) La figura muestra que el dispositivo puede separarse en dos componentes: una capa desechable que presenta microagujas, microcanales y una micromatriz 100a y una parte no desechable 100b en comunicación óptica con la parte desechable que presenta el dispositivo de exploración de micromatrices y otros componentes electrónicos. B) La parte desechable 100a del parche contiene un depósito 13 al interior del cual se bombea sangre desde las microagujas, un segundo depósito que contiene un tampón 14 y un microcanal 15 común para flujo laminar que es la confluencia de un tampón 15a y una entrada de sangre 15b, así como un receptáculo 16 para desechos. Adicionalmente, se muestra la parte no revestida de una fibra óptica que comprende la micromatriz 26. C) Muestra varias partes desechables y no desechables juntas.

Descripción detallada de la invención

En su forma más básica, la invención se refiere a un dispositivo médico que actúa como sensor para detectar cualitativa y/o cuantitativamente analitos en líquidos corporales. Los analitos de este tipo pueden ser indicativos potencialmente de enfermedad o pueden ser fármacos o metabolitos de fármacos. Adicionalmente, el dispositivo puede liberar agente(s) terapéutico(s) en respuesta a entradas sensoriales. Como tal, puede proporcionar además medicación y diagnóstico continuos. Los dispositivos de la invención pueden ser implantables, ingeribles o llevarse puestos sobre la piel como un parche.

Los dispositivos pueden tomar muestras de analitos en líquidos biológicos. Los líquidos biológicos incluyen pero no se limitan a sangre, suero, orina, jugos gástricos y digestivos, lágrimas, saliva, heces, semen, y líquidos intersticiales derivados de tejidos tumorales.

El líquido corporal introducido en el dispositivo médico se pone en contacto con una micromatriz que toma muestras de analitos biológicos en los líquidos corporales. Puede liberarse líquido desde el dispositivo médico y puede contener agente(s) terapéutico(s) liberado(s) en respuesta a la presencia o ausencia de un analito particular. Lo más preferentemente, se facilita el movimiento del líquido corporal al interior o exterior del dispositivo médico mediante una bomba, tal como una bomba microfluídica u osmótica. En otra forma de realización, se realiza el transporte molecular a través de carriles microfluídicos presurizados que hacen que fluyan los líquidos sobre una micromatriz. Aún en otra forma de realización, se transportan moléculas mediante corrientes eléctricas naturales conducidas por transmisores de red de área personal (PAN) o sensores piezoeléctricos o magnéticos.

Con respecto a las formas de realización implantables, el dispositivo puede sellarse en la punta de un endoscopio para catéter para el análisis en tiempo real y el modelado de las concentraciones de fármacos dentro del organismo. Por ejemplo, los dispositivos pueden estar asociados con una endoprótesis vascular, gástrica o biliar, por ejemplo. En otra forma de realización, el dispositivo se sella en el interior de la endoprótesis. En otra forma de realización, los dispositivos se envasan en un sistema de polímero que les permite implantarse en el organismo, lentes que podrían colocarse en la parte posterior del ojo, sensores externos de gases y contaminación del aire, y otros objetivos en los que se requiere la monitorización en tiempo real.

En una forma de realización, el dispositivo está en forma de un parche. Figura 2. Preferentemente, el dispositivo es un parche adhesivo que se aplica externamente a la piel para utilizarse como monitor de analitos de sangre completa. Más preferentemente, los analitos de la sangre son fármacos cuyos niveles se monitorizan mediante el parche. Los fármacos de este tipo presentan estrechos intervalos terapéuticos y están presentes en concentraciones micromolares en la sangre. Lo más preferentemente, se mide directamente la concentración y/o identidad de moléculas de analito diana en la sangre en el parche y entonces puede transmitirse tal información a sistemas de almacenamiento de datos internos o externos.

Se prevé que el parche extraiga sangre a través de la piel utilizando al menos una, si no una pluralidad, de microagujas. Figura 4. Preferentemente, las microagujas son de aproximadamente el tamaño de un pelo humano y presentan una cubeta o microdepósito integrado. La microaguja penetra en la piel de forma indolora y extrae una muestra de sangre minúscula. Más preferentemente, las microagujas recogen de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 microlitro, preferentemente, de 0,05 a aproximadamente 0,5 microlitros y lo más preferentemente de aproximadamente 0,1-0,3 microlitros de sangre capilar y los suministran a un depósito en el parche. Preferentemente, las microagujas se construyen de silicio y son de aproximadamente 10 a aproximadamente 200, preferentemente de aproximadamente 50 a 150 y lo más preferentemente de 100 micras de diámetro, haciendo que su aplicación a la piel sea prácticamente indolora. Como el parche va a colocarse de la manera más probable en una zona del organismo con peor perfusión que la yema de un dedo, por ejemplo, es probable que la densidad capilar sea bastante baja. Para garantizar que las agujas realmente se encuentran con un capilar, se utilizará una pluralidad para la recogida de sangre, tal como se muestra en la figura 4. Preferentemente

tales microagujas son del tipo comercializado por Pelikan (Palo Alto, CA) y/o Kumetrix (Union City, CA) véase también la patente US n.º 6.503.231.

5 En una forma de realización, se prevé utilizar agujas de polímero, algunas de las cuales están recubiertas con polímeros y geles porosos que permiten la separación de las moléculas seleccionadas como diana basándose en el tamaño y/o la especificidad. Los geles incluyen pero no se limitan a policlorimerida y elastómeros de policarbonatos porosos.

10 En general, los procedimientos de microfabricación que pueden utilizarse en la preparación de las microagujas dadas a conocer en la presente memoria incluyen litografía; técnicas de grabado químico, tales como eliminación de resina fotosensible, en seco y química en húmedo; oxidación térmica de silicio; electrodeposición y deposición sin electricidad; procesos de difusión, tales como difusión de boro, fósforo, arsénico y antimonio; implantación iónica; deposición de película, tal como evaporación (filamento, haz electrónico, ultrarrápida, y sombreado y cobertura escalonada), pulverización iónica, deposición química en fase de vapor (CVD), epitaxia (fase de vapor, fase líquida y haz molecular), electrodeposición, serigrafía y laminación. Véase generalmente Jaeger, Introduction to
15 Microelectronic Fabrication (Addison-Wesley Publishing Co., Reading Mass. 1988); Runyan, *et al.*, Semiconductor Integrated Circuit Processing Technology (Addison-Wesley Publishing Co., Reading Mass. 1990); Proceedings of the IEEE Micro Electro Mechanical Systems Conference 1987-1998; Rai-Choudhury, ed., Handbook of Microlithography. Micromachining and Microfabrication (SPIE Optical Engineering Press, Bellingham, Wash. 1997). Alternativamente, pueden moldearse agujas en obleas de silicio y luego recubrirse electrolíticamente utilizando técnicas de corte de hilos convencionales con níquel, oro, titanio u otros metales biocompatibles diversos. En otra forma de realización, pueden crearse agujas a partir de biopolímeros. Pueden fabricarse microagujas y emplearse para los dispositivos reivindicados según los procedimientos de Mukerjee *et al.*, Sensors and Actuators A: Physical, Volumen 114, Issues 2-3, 1 de septiembre de 2004, páginas 267-275, que se incorporan a la presente memoria como referencia en su
20 totalidad.

También es preferible que aunque el dispositivo puede tomar múltiples mediciones, sólo se utilice una microaguja una vez. Preferentemente, se llevan a cabo múltiples extracciones de sangre por un accionador mecánico que inserta y retira la aguja y también desecha la aguja utilizada y recarga una nueva aguja. Las tecnologías mecánicas desarrolladas y fabricadas en volúmenes muy altos para unidades de disco muy pequeñas (por ejemplo, unidad de microdisco de IBM) presentan un conjunto similar de requisitos de movimiento y de bajo coste. Preferentemente, un microaccionador es un dispositivo MEMS (microsistema electromecánico mecanizado) fabricado utilizando procesos discontinuos de tipo semiconductor. Los accionadores de este tipo incluyen dispositivos piezoeléctricos, neumáticos o de aleación de níquel-titanio. Las agujas más pequeñas son de aproximadamente 1-10, preferentemente de
30 aproximadamente 2-6 y lo más preferentemente de aproximadamente 4 micras de grosor pero de más de aproximadamente 10-100, preferentemente de aproximadamente 30-60, y lo más preferentemente de aproximadamente 40 micras de altura.

40 Alternativamente, las agujas se accionan mediante un sistema de resorte-solenoide en el que un pasador activa la liberación de un resorte miniaturizado arrollado lo suficientemente apretado para generar la fuerza suficiente y la amplitud de movimientos necesaria para el accionamiento.

45 En una forma de realización, el dispositivo de parche de la invención presenta dos componentes separables: un componente desechable que presenta una pluralidad de microagujas, microcanales y una micromatriz (dispositivo de análisis); así como un componente no desechable que presenta un dispositivo de exploración de micromatrices y la capacidad para transmitir los resultados de la interacción de un analito con un agente bioactivo en una micromatriz a un dispositivo de reconocimiento biológico, preferentemente mediante comunicaciones inalámbricas, por ejemplo, mediante Bluetooth® (dispositivo lector de análisis) (véase la figura 5). En esta realización, un componente desechable utilizado puede retirarse del componente no desechable mientras que la parte no desechable permanece en su lugar en el cuerpo del sujeto. Entonces puede aplicarse un componente desechable nuevo que presenta agujas nuevas a la parte no desechable ya en su lugar en el cuerpo de un paciente. El componente desechable nuevo puede detectar cuantitativa o cualitativamente el mismo analito o uno diferente que el componente desechable utilizado previamente. Figura 7. En esta realización es preferible aplicar componentes desechables nuevos una vez que las microagujas del componente desechable utilizado se atascan con coágulos de
50 sangre, por ejemplo. El componente no desechable también puede contener uno o más componentes desechables. En esta configuración, cada uno de los componentes desechables puede detectar simultáneamente un analito diferente. Alternativamente, los componentes desechables detectan cada uno el mismo analito aunque se accionan secuencialmente de manera que se tomen muestras del líquido corporal, por ejemplo sangre, en periodos diferenciados de tiempo. En esta configuración, el dispositivo detecta el analito a lo largo de un periodo prolongado de tiempo desplegando un componente desechable tras otro a lo largo de un periodo de tiempo. Preferentemente, el dispositivo presenta 12 componentes desechables y puede detectar un analito a lo largo de un periodo de 24 horas desplegando un nuevo componente desechable cada 2 horas.

65 En formas de realización implantables o que pueden tragarse, es preferible recubrir el dispositivo con un "polímero bioestable", que se refiere a aquellos materiales que no experimentan una degradación significativa con la exposición prolongada (por ejemplo, hasta una semana, seis meses, un año, o más) a líquidos corporales, tejidos, y

similares y permite así que el dispositivo pase a través de la totalidad del tracto intestinal. Se prefiere que se introduzca fluido y se libere desde el dispositivo médico o bien a través de poros o bien de canales en el polímero. Figura 1.

5 Los materiales de recubrimiento bioestables de determinadas formas de realización de este aspecto de la invención son materiales de polímeros porosos que se caracterizan por poros interconectados de suficiente tamaño para permitir el flujo de líquidos corporales al interior del dispositivo médico y la liberación desde el mismo, de agentes terapéuticos. Los materiales de polímeros porosos se caracterizan preferentemente por un diámetro de poro
10 promedio de al menos aproximadamente 5 micras, más preferentemente de al menos aproximadamente 8 micras, y más preferentemente de al menos aproximadamente 10 micras. Los polímeros aptos para su utilización en formas de realización en las que se obtiene una estructura porosa mediante liofilización incluyen cualquier polímero bioestable adecuado, tal como poliuretanos (incluyendo dispersiones de poliuretano), polímeros de etileno-acetato de vinilo, hidrogeles tales como gelatina reticulada, dextrano, ácidos policarboxílicos, polímeros celulósicos, gelatina, polivinilpirrolidona, polímeros de anhídrido maleico, dispersiones de látex acrílicos, poliamidas, poli(alcoholes
15 vinílicos), poli(óxidos de etileno), glicosaminoglicanos, polisacáridos, poliésteres, poliacrilamidas, poliéteres, y combinaciones y copolímeros de los mismos.

El término "analito" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a anticuerpos, proteínas séricas, colesterol, polisacáridos, ácidos nucleicos, fármacos y metabolitos de fármacos, etc., que se encuentran en los líquidos corporales y tejidos del organismo. En otra forma de realización, el analito es cualquier analito biológico, marcador, gen, proteína, metabolito, u hormona o combinación en los mismos indicativa de un estado biológico deseado para análisis para determinar una condición o estado físico. Es el fin del dispositivo de la invención "detectar" cualitativa y/o cuantitativamente analitos en los líquidos corporales. Preferentemente, se produce una detección de este tipo
20 periódicamente. Lo más preferentemente, se produce en tiempo real. En una forma de realización, los analitos están presentes en concentraciones de micromolares a nanomolares y son agentes quimioterápicos sumamente potentes, tales como aminoglicósidos o antibióticos, por ejemplo, vancomicina, para los que es sumamente deseable la monitorización minuto a minuto debido a que los analitos presentan estrechos intervalos terapéuticos.

A través de la monitorización continua de los niveles de analito en el organismo, el dispositivo de la invención permite al investigador optimizar los regímenes terapéuticos y de dosificación y desarrollar rápidamente modelos farmacocinéticos para fármacos experimentales. La validación de dianas, la optimización de compuestos principales y la optimización de compuestos (estudios de toxicidad e intervalo terapéutico) pueden realizarse ahora de una manera mucho más rápida y más exacta debido a que la monitorización de concentraciones valle permite una rápida eliminación de dianas o validación de esquemas de dosificación además del desarrollo de compuestos principales
30 diana. Por tanto, los dispositivos de la invención son útiles en la reducción de la incertidumbre en cuanto a si entrar en análisis clínicos de fase II y III, disminuyendo de ese modo el tiempo hasta el registro y los costes globales del desarrollo de fármacos. Además, los dispositivos de la invención proporcionan una manera de detectar concentraciones de fármaco de compuestos nuevos en un análisis basado en fluorescencia, que sigue siendo el procedimiento de referencia en cuanto a sensibilidad, y proporciona por primera vez una solución basada en fluorescencia dirigida para la monitorización de compuestos nuevos.

La expresión "marcador de enfermedad" tal como se hace referencia en la presente memoria es un analito detectable, por ejemplo, anticuerpos, proteínas séricas, colesterol, polisacáridos, ácidos nucleicos, fármacos y metabolitos de fármacos, etc., que se encuentran en los líquidos y tejidos corporales que está presente o ausente en el organismo y se sabe que está correlacionado con la enfermedad. Los analitos, que permiten la detección de determinados estados fisiológicos, también pueden ser indicativos de una fisiología sana normal. Se hace referencia a éstos en la presente memoria como analitos biológicos "normales" o "sanos". Preferentemente, el dispositivo de reconocimiento biológico de la invención detecta un marcador de enfermedad basándose en datos de parámetros físicos que disciernen entre las características físicas de una interacción entre 1) un analito biológico marcador de enfermedad y un agente bioactivo en la micromatriz y 2) un analito biológico normal con un agente bioactivo en la micromatriz. Los analitos biológicos marcadores de enfermedad permiten la detección de determinados estados fisiológicos, por ejemplo, infección, inflamación, enfermedad autoinmunitaria, cáncer, etc. Los marcadores de enfermedad conocidos en la actualidad por los expertos y los marcadores de enfermedad que se conocerán en el futuro están englobados por esta invención. La presencia de un marcador de enfermedad indica la presencia de
50 enfermedad y justifica la liberación de un agente terapéutico.

Los analitos biológicos marcadores de enfermedad pueden ser genes o sus productos que se sobreexpresan o son hiperactivos en células que experimentan una proliferación no deseada. Por ejemplo, el dispositivo de la invención puede implantarse en un tumor o un tejido que se sospecha que contiene un tumor tal como una cavidad o espacio que queda tras un procedimiento de biopsia. Si la invención detecta un aumento de las concentraciones de analitos biológicos de este tipo o formas hiperactivas mutadas de los analitos de este tipo, por ejemplo, marcadores de enfermedad, está justificada una liberación de agente(s) terapéutico(s) tal(es) como un agente citotóxico. Estos analitos biológicos marcadores de enfermedad pueden ser indicativos de proliferación celular no deseada tal como cáncer, proliferación de la neointima que da como resultado estenosis arterial, psoriasis, etc. Los analitos biológicos marcadores de enfermedad pueden detectarse analizando la expresión génica en tejidos y haciéndola coincidir con patrones de expresión de genes tumorales o comparándolos con patrones de expresión normales. En una forma de
65

realización preferida, las micromatrices se utilizan para detectar la presencia de un analito biológico marcador de enfermedad definido por la presencia, ausencia o hiperabundancia de una secuencia de nucleótidos particular, incluyendo un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), ARNm o una proteína particular, tal como una enzima, un anticuerpo o un antígeno.

5 En una forma de realización, los analitos biológicos marcadores de enfermedad son antígenos específicos de tumor. Por ejemplo, se expresan antígenos de este tipo en la superficie de o se liberan desde células cancerosas, por ejemplo el antígeno específico de tumor MUC-1. La detección de la expresión de MUC-1 a través de la detección de ácidos nucleicos o mediante la actividad de proteínas, puede desencadenar la liberación de agentes citotóxicos como agentes terapéuticos.

15 Otro ejemplo se refiere a tirosina cinasas receptoras (RTK), que son importantes en la transducción de señales mitogénicas. Las RTK son grandes proteínas transmembrana que presentan un dominio de unión a ligandos extracelulares para factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), una parte intracelular que funciona como una cinasa para fosforilar residuos de aminoácido de tirosina en proteínas del citoplasma, mediando de ese modo la proliferación celular. Se conocen diversas clases de tirosina cinasas receptoras basadas en las familias de factores de crecimiento que se unen a diferentes tirosina cinasas receptoras. Las cinasas de clase I tales como la familia de EGF-R de tirosina cinasas receptoras incluyen los receptores de EGF, HER2-neu, erbB, Xmrk, DER y let23. Estos receptores están presentes frecuentemente en cánceres humanos comunes tales como cáncer de mama, cáncer de células escamosas del pulmón, cáncer de vejiga, cáncer esofágico, cáncer gastrointestinal tal como cáncer de colon, rectal o estómago, leucemia y cáncer de ovario, bronquial o pancreático. A medida que se someten a prueba tumores humanos adicionales para detectar la familia de EGF de tirosina cinasas receptoras, se espera que se establezca su prevalencia extendida en otros cánceres tales como cáncer de tiroides y de útero. Específicamente, la actividad tirosina cinasa de EGFR se detecta rara vez en células normales mientras que puede detectarse más frecuentemente en células malignas. Se ha mostrado más recientemente que EGFR se sobreexpresa en muchos cánceres humanos tales como tumores cerebrales, de células escamosas del pulmón, de vejiga, gástricos, de mama, de cabeza y cuello, esofágicos, ginecológicos y de tiroides. Las tirosina cinasas receptoras también son importantes en otras enfermedades de proliferación celular tales como psoriasis. Los trastornos de EGFR son aquellos caracterizados por la expresión de EGFR por células que normalmente no expresan EGFR, o un aumento de la activación de EGFR que conduce a una proliferación celular no deseada, y/o la existencia de niveles inapropiados de EGFR. Se sabe que el EGFR se activa por su ligando EGF así como por el factor de crecimiento transformante alfa (TGF- α). La proteína Her2-neu también es un miembro de la familia de tirosina cinasas receptoras (RTK) de clase I. La proteína Her2-neu está relacionada estructuralmente con EGFR. Estos receptores comparten una arquitectura molecular común y contienen dos regiones ricas en cisteína dentro de sus dominios citoplasmáticos y regiones enzimáticas relacionadas estructuralmente dentro de sus dominios citoplasmáticos. Por consiguiente, la detección de niveles anómalamente altos de expresión de RTK o actividad de señalización a través de la detección de ácidos nucleicos o mediante la actividad de proteínas puede constituir un marcador de enfermedad y puede justificar la liberación de inhibidores de RTK o agentes citotóxicos como agentes terapéuticos.

40 La expresión relativamente alta de genes que inhiben directa o indirectamente agentes quimioterápicos constituyen un marcador de enfermedad para los fines de la invención. Por ejemplo, la alta expresión tumoral del gen de reparación del ADN ERCC1 justifica la liberación de agentes quimioterápicos genotóxicos a una concentración local alta pero sistémica baja. Por tanto, se logran concentraciones que no se mantendrían de forma segura de manera sistémica. Adicionalmente, se sabe que altos niveles tumorales del gen DPD inhiben un régimen quimioterápico basado en 5-FU. De manera similar, la alta expresión tumoral de DPD justifica la liberación de agentes quimioterápicos de 5-FU a una concentración local alta pero sistémica baja. Alternativamente, el experto también se daría cuenta de que altos niveles de ERCC1 o DPD pueden ser indicativos de resistencia a agentes quimioterápicos y que la utilización de agentes genotóxicos o de 5-FU, respectivamente, puede no ser apropiada. En tal caso, deben liberarse agentes terapéuticos citotóxicos distintos a los agentes genotóxicos o de 5-FU desde el dispositivo, respectivamente.

55 Alternativamente, el dispositivo puede configurarse para detectar un panel de marcadores de enfermedad indicativos de una enfermedad tal como cáncer y la liberación de altas concentraciones locales de agentes citotóxicos tales como un agente terapéutico.

60 En una forma de realización adicional, los analitos biológicos marcadores de enfermedad pueden ser indicativos de inflamación, que desempeña un papel crucial en la etiología de la enfermedad inflamatoria del intestino, esclerosis múltiple, diabetes de inicio en la infancia, psoriasis, artritis reumatoide, etc. Las enfermedades de este tipo requerían previamente de grandes dosis sistémicas regulares de esteroides potencialmente dañinos para tratar sólo la inflamación localizada. Las altas concentraciones locales de analitos biológicos tales como TNF-alfa, IL-1, IL-8, IL-2, IL-3, MIF (IL-4), GM-CSF, INF-gamma y TNF-beta son indicativas de inflamación. La detección de una concentración anómalamente alta de tales analitos biológicos constituye un marcador de enfermedad y justifica la liberación localizada de fármacos antiinflamatorios o anticuerpos como agentes terapéuticos.

65

- En otra forma de realización, los analitos biológicos marcadores de enfermedad pueden ser indicativos de infección por un microorganismo. Como tal, los marcadores de enfermedad pueden incluir proteínas o ácidos nucleicos virales o bacterianos o fragmentos de los mismos. Por ejemplo, la detección de analitos biológicos tales como toxinas bacterianas incluyendo exotoxinas y enterotoxinas así como TSST-1, u otro superantígeno bacteriano, o toxina botulínica, toxina diftérica, antígeno protector de ántrax, factor de edema de ántrax y factor letal de ántrax, etc., así como proteínas virales tales como neuraminidasa o hemaglutinina de influenza, constituirían un marcador de enfermedad indicativo de infección y justificarían la liberación localizada de fármacos antimicrobianos o anticuerpos específicos de toxina como agentes terapéuticos.
- Otro aspecto de la invención se refiere a una micromatriz. La micromatriz es la parte de los dispositivos de la invención que facilita una interacción entre un analito y un agente bioactivo. En su función más básica, una "micromatriz" tal como se define en la presente memoria puede constituir cualquier superficie, por ejemplo, la pared de un canal microfluídico, cubierta o funcionalizada mediante un agente bioactivo de manera que un dispositivo de exploración de micromatrices pueda detectar interacciones entre un agente bioactivo y un analito. Figuras 8, 10, 11.
- En otra forma de realización, la micromatriz es una colección de sitios de prueba miniaturizados dispuestos en una superficie que permite que se realicen muchas pruebas, o análisis, en paralelo. En este contexto, la micromatriz se expone directamente a los líquidos y/o tejidos corporales y puede procesar simultáneamente una pluralidad de diferentes análisis y proporcionar la interacción de uno o más agentes bioactivos con uno o más analitos biológicos.
- Por ejemplo, la capacidad de un biosensor de matriz basado en fluorescencia para medir y cuantificar la unión de un antígeno a un anticuerpo inmovilizado se ha demostrado utilizando los cuatro formatos de inmunoanálisis diferentes: directo, competitivo, de desplazamiento y tipo "sándwich". Sapsford *et al.*, Anal Chem. 2002 Mar 1;74(5):1061-8 , utilizaron una matriz con patrón de anticuerpos específicos para 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) inmovilizados sobre la superficie de una guía de ondas plana y midieron las señales procedentes de diferentes concentraciones de antígenos simultáneamente. Para análisis directos, competitivos y de desplazamiento, que son análisis de una sola etapa, se obtuvieron las mediciones en tiempo real. Se calcularon curvas de dosis-respuesta para los cuatro formatos de análisis, demostrando la capacidad del biosensor de matriz para cuantificar la cantidad de antígeno presente en disolución.
- En una forma de realización de este aspecto de la invención, la micromatriz es una zona en una fibra óptica de vidrio que está funcionalizada con un agente bioactivo. Figura 11. En otra forma de realización, la micromatriz puede presentar una pluralidad de fibras ópticas de vidrio cada una funcionalizada con el mismo agente bioactivo o uno diferente. En una forma de realización particular, el agente bioactivo de la micromatriz es una proteína tal como un anticuerpo específico para un analito. Pueden emplearse dos procedimientos a modo de ejemplo para unir agentes bioactivos proteicos a las fibras ópticas de vidrio. El primero se basa en el desarrollado por Bhatia *et al.* 1998, Analytical Biochemistry, 178 408-13. Éste implica funcionalizar una superficie con 3-mercaptopropiltrimetoxisilano. Tras lo cual, se utiliza un agente de reticulación de éster de N- γ -maleimidobutiriloxisuccinimida para unir el agente bioactivo proteico a la superficie funcionalizada. El segundo procedimiento implica utilizar un procedimiento basado en dextrano descrito por Tedeschi *et al.* 2003, Biosensors and Bioelectronics, 19 85-93. Este procedimiento utiliza glicidil 3-(trimetoxisilil)propil éter para unir los grupos hidroxilo libres en vidrio limpio al polímero de dextrano. Los agentes bioactivos proteicos se unen a la matriz de dextrano tras la acidificación de los grupos ácido carboxílico en los mismos. Opcionalmente, la fibra puede recubrirse con una membrana estética que separa los analitos seleccionados como diana.
- Preferentemente, la fibra se inserta directamente en la microaguja y se recubren las paredes de las microagujas con geles de polímero para acontecimientos de unión basados en selectividad y especificidad.
- En las formas de realización que utilizan fibras ópticas de vidrio, se utiliza una fuente luminosa para excitar analitos y/o agentes bioactivos marcados de forma fluorescente de manera que la fluorescencia se altera de manera detectable con la interacción con analitos diana en líquidos corporales. Figura 11. Una fuente luminosa para excitación puede ser un módulo láser. Puede lanzarse la luz hacia la fibra óptica que contiene una región funcionalizada, es decir, una región a la que se le ha quitado el revestimiento de fibra y preparada químicamente para el recubrimiento de agente bioactivo. Figuras 9, 11. Debido a la falta de revestimiento, emana una onda evanescente desde la fibra en ese punto e incita la fluorescencia desde agentes bioactivos marcados de forma fluorescente o analitos marcados de forma fluorescente unidos a agentes bioactivos que pretende desplazar se manera competitiva los analitos en el líquido corporal del que están tomándose muestras. Figuras 8, 11. La luz emitida entra de nuevo a través de la misma fibra. La luz que retorna a la fibra se detecta mediante el dispositivo de exploración de micromatrices que puede presentar un divisor de fibras ópticas, filtros paso banda que pueden eliminar luz de fondo ambiental y un detector de fotodiodo. Puede verse un esquema de la configuración descrita en la figura 11.
- Preferentemente, el agente bioactivo es un anticuerpo que puede unirse específicamente a un fármaco analito. Alternativamente, el agente bioactivo es un antígeno que puede unirse específicamente a anticuerpos séricos. En esta última forma de realización, los dispositivos de la invención pueden detectar la producción de tipos específicos de anticuerpos producidos en respuesta a determinados estímulos inmunológicos, por ejemplo infección por VIH o tuberculosis.

En otra forma de realización, la micromatriz facilita la interacción entre 1) un analito biológico marcador de enfermedad y un agente bioactivo en la micromatriz y 2) un analito biológico normal con un agente bioactivo en la micromatriz. En este contexto, el agente bioactivo interacciona de manera diferencial con un analito biológico normal y un analito biológico marcador de enfermedad.

En otra forma de realización de la micromatriz, se utilizan matrices de microperlas. Por “microesferas” o “perlas” o “partículas” o equivalentes gramaticales en la presente memoria se quiere decir pequeñas partículas diferenciadas. La composición de las perlas variará, dependiendo de la clase de agente bioactivo y el procedimiento de síntesis. Las composiciones de perla adecuadas incluyen las utilizadas en la síntesis de péptidos, ácidos nucleicos y restos orgánicos, incluyendo, pero sin limitarse a, plásticos, cerámicas, vidrio, poliestireno, metilestireno, polímeros acrílicos, materiales paramagnéticos, sol de toria, carbono grafitizado, dióxido de titanio, látex o dextranos reticulados tales como Sepharose, celulosa, nailon, micelas reticuladas y teflón, pueden utilizarse todos ellos. El documento “Microsphere Detection Guide” de Bangs Laboratories, Fishers Ind. es una guía útil, y se incorpora como referencia en su totalidad. No es necesario que las perlas sean esféricas; pueden utilizarse partículas irregulares. Además, las perlas pueden ser porosas, aumentando así el área superficial de la perla disponible o bien para la unión al agente bioactivo o bien para la unión al marcador. Los tamaños de perla oscilan entre nanómetros, por ejemplo 100 nm, y milímetros, por ejemplo, 1 mm, prefiriéndose las perlas de desde aproximadamente 0,2 micras hasta aproximadamente 200 micras, y prefiriéndose particularmente desde aproximadamente 0,5 hasta aproximadamente 5 micras, aunque en algunas formas de realización pueden utilizarse perlas más grandes o más pequeñas. Preferentemente, cada microesfera comprende un agente bioactivo.

Otro aspecto de la invención se refiere a un “agente bioactivo”. Tal como se utiliza en la presente memoria, describe cualquier molécula, por ejemplo, proteína, oligopéptido, molécula orgánica pequeña, polisacárido, polinucleótido, etc. que se utiliza en la micromatriz y puede interaccionar con un analito o interaccionar de manera diferencial con analitos biológicos normales y marcadores de enfermedad presentes en líquidos o tejidos corporales. Los agentes bioactivos pueden marcarse de manera que permitan que el dispositivo de exploración de micromatrices determine ciertos parámetros físicos específicos para el agente bioactivo que se alteran con la interacción con analitos biológicos.

En una forma de realización, los agentes bioactivos se marcan de forma fluorescente y su fluorescencia se altera de manera detectable con la interacción con analitos diana en líquidos corporales. Alternativamente, los agentes bioactivos se asocian previamente con analitos marcados de manera que los analitos marcados se desplazan de manera competitiva por los analitos en los líquidos corporales. En cualquier caso, las características fluorescentes de la micromatriz se alteran con la interacción de la micromatriz con analitos en líquidos corporales de manera que pueden detectarse por un dispositivo de exploración de micromatrices.

Más preferentemente, o bien los analitos o bien los agentes bioactivos se marcan con nanocristales fluorescentes. En comparación con los colorantes orgánicos tales como la rodamina, los nanocristales son aproximadamente al menos 20 veces más brillantes, aproximadamente al menos 100 veces más estables frente al fotoblanqueado, y son aproximadamente un tercio más anchos en la anchura de línea espectral de emisión. Véanse, por ejemplo, Bruchez, *et al.*, Science, 281:2013-2016 (1998); Chan y Nie, Science, 281:2016-2018 (1998); Bawendi *et al.*, Annu. Rev. Phys. Chem. 41:477-496 (1990), y la bibliografía citada en ellos, incorporándose todo ello expresamente como referencia. El brillo, la estabilidad y la limitación del ancho de banda de emisión contribuyen todos ellos a la capacidad para utilizar un número relativamente grande de colores diferentes tal como se describe adicionalmente más adelante (es decir, nanocristales de diferente tamaño) mientras se conserva la capacidad para resolverlos unos de otros, y para resolver diferentes cantidades de cada nanocristal. Además, el amplio espectro de excitación permite que muchos nanocristales diferentes se exciten por una fuente de luz común.

Los agentes bioactivos pueden comprender grupos funcionales necesarios para la interacción estructural con proteínas, particularmente mediante uniones de hidrógeno, y normalmente incluyen al menos un grupo amina, carbonilo, hidroxilo o carboxilo, y preferentemente al menos dos de los grupos químicos funcionales. Los agentes bioactivos a menudo comprenden estructuras heterocíclicas o carbonadas cíclicas y/o estructuras aromáticas o poliaromáticas sustituidas con uno o más de los grupos funcionales anteriores. Los agentes bioactivos también se encuentran entre las biomoléculas incluyendo péptidos, ácidos nucleicos, sacáridos, ácidos grasos, esteroides, purinas, pirimidinas, derivados, análogos estructurales o combinaciones de los mismos. Se prefieren particularmente los ácidos nucleicos y las proteínas.

La expresión “interaccionar con,” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a la unión iónica, covalente o de hidrógeno, unión de proteínas, hibridación de ácidos nucleicos, atracción magnética o hidrófoba u otra asociación detectable y/o cuantificable de un analito y un agente bioactivo en la micromatriz. “Interaccionar de manera diferencial con,” se refiere al hecho de que un analito biológico marcador de enfermedad interaccionará con un agente bioactivo de manera diferente que un analito biológico indicativo de fisiología normal.

Por ejemplo, las diferencias físicas en la interacción entre 1) un analito biológico marcador de enfermedad y un agente bioactivo y 2) un analito biológico normal con un agente bioactivo, pueden detectarse comparando las

características físicas del agente bioactivo antes, durante o tras la interacción con el analito biológico. Los cambios detectables y/o cuantificables en los agentes bioactivos tras la interacción con un analito biológico pueden medirse a través de una serie de parámetros físicos que dependen de la naturaleza del agente bioactivo empleado. Por ejemplo, puede demostrarse una asociación detectable y/o cuantificable mediante un cambio en la intensidad de fluorescencia o la longitud de onda debido a la unión o hibridación del agente bioactivo con un analito biológico.

En otra forma de realización, la unión (interacción) de un anticuerpo asociado a fluorescencia en una micromatriz (agente bioactivo), específico para una proteína específica de tumor particular (analito biológico marcador de enfermedad), da como resultado un cambio detectable en la intensidad de la fluorescencia del agente bioactivo. Este cambio estereotipado es indicativo de que la presencia de un marcador de enfermedad particular se ha determinado previamente de manera empírica cuando se selecciona el agente bioactivo y el marcador de enfermedad objetivo apropiados. Aunque la unión no específica puede alterar la fluorescencia del agente bioactivo, no lo hará de forma predecible y estereotipada de acuerdo con los resultados determinados empíricamente, y como tal, no será indicativo de la presencia de un analito biológico marcador de enfermedad.

Una característica de la invención se refiere a un "dispositivo de exploración de micromatrices". Los datos de parámetros físicos de una interacción entre analitos y los agentes bioactivos de la micromatriz se "leen" preferentemente por un dispositivo de exploración de micromatrices y se transmiten a un dispositivo de reconocimiento biológico para determinar la presencia, ausencia, o cantidad de analitos en líquidos corporales. Preferentemente, se detecta un cambio en las características físicas de la micromatriz con la interacción entre el analito y el agente bioactivo. Alternativamente, el dispositivo de exploración puede distinguir entre las características físicas de una interacción entre 1) un analito biológico marcador de enfermedad y un agente bioactivo en la micromatriz y 2) un analito biológico normal con un agente bioactivo en la micromatriz.

Los "datos de parámetros físicos" tal como se hace referencia en la presente memoria incluyen información relacionada con la interacción entre analitos con agentes bioactivos en la micromatriz reunida por el dispositivo de exploración de micromatrices. Los datos de parámetros físicos se transmiten al dispositivo de reconocimiento biométrico para su análisis. El dispositivo de exploración mide las características físicas, por ejemplo, bioeléctricas, biomagnéticas o bioquímicas de las interacciones entre los analitos biológicos y el agente bioactivo de la micromatriz recogiendo los datos sobre uno o más parámetros físicos relacionados con la interacción. Tales parámetros pueden incluir pero no se limitan a: fluorescencia, fuerza de unión, especificidad de unión, carga, etc.

Preferentemente, los datos de parámetros físicos se almacenan en o se comparan con perfiles almacenados de los datos de parámetros físicos en un sistema de bioinformática que incorpora datos farmacogenómicos y farmacocinéticos en sus modelos para la determinación de la toxicidad y la dosificación. Esto no sólo permite la generación de datos para análisis clínicos años antes de los procedimientos actuales, sino que también permite la eliminación de disparidades actuales entre la eficacia aparente y la toxicidad real de fármacos a través de la monitorización continua en tiempo real. Para su utilización en análisis clínicos durante el proceso de decisión viable/no viable pueden llevarse a cabo estudios de población comparativos a gran escala con los datos almacenados en la base de datos a través de la información almacenada en el servidor. Esto permite que entren más pacientes en los análisis clínicos de forma segura más pronto. En otra forma de realización, biomarcadores descubiertos en tejido humano pueden seleccionarse como diana por el dispositivo para mejorar la exactitud en la determinación de las rutas de fármacos y la eficacia en estudios de cáncer.

En una forma de realización de esta característica, las micromatrices se diseñan de manera que los elementos de fibra óptica pueden emitir y recibir luz a una longitud de onda particular para permitir la adquisición de datos de parámetros físicos relacionados con la interacción entre el agente bioactivo y analito. En un ejemplo, los agentes bioactivos en la micromatriz se saturan sustancialmente con una cantidad predeterminada de analito marcado de modo fluorescente de manera que cuando interaccionan con el analito diana no marcado de un líquido corporal, el analito no marcado desplaza de manera competitiva al analito marcado en la micromatriz hasta un grado acorde con su concentración dentro del líquido corporal. Como tal, el dispositivo de exploración de micromatrices detectará y transmitirá una disminución correspondiente en fluorescencia en la micromatriz.

En otro ejemplo, una vez que la luz se ha absorbido por un colorante en el agente bioactivo, parte de la luz de intensidad y longitud de onda variable vuelve y se transporta a través de o bien la misma fibra o bien la colección de fibra(s) hasta el dispositivo de exploración de micromatrices para su cuantificación. Las interacciones entre la luz transportada por la fibra óptica y las propiedades de un colorante que absorbe luz proporcionan una base óptica para determinaciones tanto cualitativas como cuantitativas de cambios en las características físicas evidenciadas por la interacción entre analitos y agentes bioactivos. Véanse las patentes US nº 6.482.593 y 6.544.732. El dispositivo de reconocimiento biométrico recibe datos de señales de recepción ópticas y de fluorescencia, es decir datos de parámetros físicos, y puede dar instrucciones al dispositivo de liberación de agente terapéutico para que dispense agentes terapéuticos especificados. Un ejemplo de un dispositivo de exploración de micromatrices adecuado está disponible comercialmente a partir de varias fuentes tales como Illumina, Inc. San Diego, CA.

Una posibilidad para detectar diferencias en la fluorescencia que resulta de interacciones entre analitos y agentes bioactivos, es mediante la detección de emisiones con un detector en las proximidades de las moléculas emisoras.

Otra posibilidad es acoplado emisiones en una fibra que van a detectarse en el extremo distal por un detector. La fibra que detecta la fluorescencia puede ser la misma fibra que suministra la luz entrante o una fibra separada exclusivamente para la detección de fluorescencia. En este último caso, debe retirarse el revestimiento de la fibra de detección de la micromatriz y tratarse para el acoplamiento óptico. El acoplamiento de nuevo en una fibra puede ser más eficiente utilizando lentes adyacentes a la fibra para enfocar la luz emitida de manera más precisa. Los detectores, tal como se ha descrito anteriormente, pueden incluir CCD, PMT, y lo más preferentemente fotodiodos. Los detectores lo más probablemente serán selectivos para la longitud de onda de emisión mediante la utilización de un filtro paso banda. Este detector puede ubicarse en el extremo distal de la fibra de suministro.

En la figura 11, se muestra una fibra de óptica de vidrio de micromatriz a modo de ejemplo conectada a una parte de un dispositivo de exploración de micromatrices. La figura representa una fibra no revestida funcionalizada que se extiende al interior de microcanales del dispositivo y constituye una parte de la micromatriz. La micromatriz de los dispositivos de la invención puede incluir al menos una o una pluralidad de fibras ópticas que pueden estar en un sistema de fibra óptica bifurcada.

En la figura, la fibra óptica está funcionalizada con un agente bioactivo de anticuerpo y está configurada para funcionar como un análisis de desplazamiento similar al de un inmunoanálisis de polarización de fluorescencia. Puesto que las fibras propagan la luz utilizando los principios de la reflexión interna total (TIR), se emiten ondas evanescentes perpendiculares a la fibra en regiones descubiertas (es decir la región funcionalizada). Una onda evanescente se absorberá por cualquier molécula presente en la superficie de la fibra, y se emiten espectros con desplazamiento de Stokes por los fluoróforos (si están presentes). La fibra está en comunicación óptica con un divisor de fibras que permite que la luz pase al interior de la fibra no revestida funcionalizada y cambie la trayectoria de la luz que vuelve desde la fibra no revestida funcionalizada hasta un detector de fotodiodo.

En la realización de parche del dispositivo de la invención que presenta un componente desechable y uno no desechable, el componente desechable presenta microagujas, microcanales y una micromatriz. Cuando se insertan, las fibras ópticas de la micromatriz del componente desechable están en comunicación óptica con un divisor de fibras y detector de fotodiodo correspondientes, que constituyen una parte del dispositivo de exploración de micromatrices del componente no desechable del parche.

En otra forma de realización del dispositivo de exploración de micromatrices, se detecta un cambio en la fluorescencia de la micromatriz con su interacción con un analito utilizando un espectrómetro de fluorescencia de reflexión interna total (TIRF). El principio del TIRF se representa esquemáticamente en las figuras 9, 10. La reflexión interna total es un fenómeno óptico que se produce cuando la luz que se propaga en un medio denso (tal como vidrio) se encuentra con una superficie de contacto con un medio menos denso, tal como el tampón representado en la figura 9. Si la luz se encuentra con la superficie de contacto con un ángulo pequeño, parte de la luz pasa a través de la superficie de contacto (se refracta) y parte se refleja de nuevo en el medio denso. A un cierto ángulo, toda la luz se refleja. Este ángulo se conoce como el ángulo crítico, y su valor depende de los índices de refracción de los medios. Sin embargo, parte de la energía del haz se propaga una corta distancia (preferentemente algunos cientos de nanómetros) al interior del tampón, generando una onda evanescente. Si esta energía no se absorbe, pasa de nuevo al interior del vidrio donde puede detectarse. Sin embargo, si una molécula de fluoróforo asociada con un agente bioactivo o analito marcado, está dentro de la onda evanescente puede absorber fotones y excitarse. De esta forma, es posible obtener fluorescencia con muy poco fondo de luz de excitación. Los niveles de fluorescencia de un único fluoróforo son extremadamente bajos (cientos de miles de fotones por segundo). Sin embargo, preferentemente se detecta de dos formas. La primera es utilizar una cámara CCD intensificada que puede producir una imagen, en la que los fluoróforos unidos aparecerán como puntos brillantes. Alternativamente, es posible obtener imágenes del fluoróforo a través de una perforación en un tubo fotomultiplicador (PMT), con el que puede contarse el número de fotones detectados. Preferentemente, se emplea un dispositivo de exploración de micromatrices de este tipo que utiliza un sistema óptico integrado tal como el sensor de Texas Instruments Spreeta™. Más preferentemente, el dispositivo de exploración de micromatrices utiliza resonancia de plasmones superficiales, una técnica basada en onda evanescente similar a TIRF. En un sensor de este tipo, se utiliza una fuente de luz LED polarizada junto con una matriz de fotodetectores para medir la posición de la luz reflejada.

Otra característica de este aspecto de la invención se refiere a un dispositivo de reconocimiento biométrico que a través del análisis de los datos de parámetros físicos, por ejemplo, imagen de fluoróforo o recuento de fotones, recogidos por el dispositivo de exploración de micromatrices determina la ausencia, presencia o cantidad de un analito. Cuando un analito interacciona con un agente bioactivo en la micromatriz, el dispositivo de exploración de micromatrices transporta los datos sobre los parámetros físicos de la interacción al dispositivo de reconocimiento biológico que a su vez, hace corresponder esos datos con un perfil de interacción de analito conocido para determinar la presencia, ausencia y/o cantidad de un analito.

En una forma de realización, los análisis biológicos marcadores de enfermedad interaccionan con un agente bioactivo en una micromatriz de forma estereotipada y predecible y la interacción se pone de manifiesto mediante datos de parámetros físicos reproducibles y predecibles. Los datos conocidos se denominan en lo sucesivo en la presente memoria "perfil de interacción de analitos." Tales perfiles se habrán establecido empíricamente *in vitro* y el dispositivo de reconocimiento biométrico puede tener acceso tanto a perfiles de interacción de analitos de

marcadores de enfermedad como de analitos normales. El dispositivo de reconocimiento biométrico recibe datos de parámetros físicos sin procesar del dispositivo de exploración de micromatrices y compara esa información con los perfiles de interacción de analitos almacenados. El dispositivo de reconocimiento biométrico puede tener acceso tanto a perfiles de interacción de analitos de marcadores de enfermedad como de analitos normales.

El dispositivo de reconocimiento biométrico o bien se ubica en el dispositivo médico inventivo o bien se ubica externamente. La comunicación entre el dispositivo de exploración de micromatrices y el dispositivo de reconocimiento biométrico puede facilitarse por una red de área local (LAN) o una red de área local inalámbrica (WLAN), por ejemplo mediante tecnología Bluetooth®. Adicionalmente, el dispositivo de precognición biométrica también puede almacenar perfiles de interacción de analitos y construir una base de datos farmacocinéticos de información accesible en la forma de perfiles de interacción de analitos.

En una configuración particularmente preferida para detectar y cuantificar la presencia de analitos, el dispositivo es un parche con canales microfluídicos tal como se muestra en la figura 5. El dispositivo presenta al menos dos entradas que alimentan hacia un canal principal. Se alimenta sangre de muestra (que contiene el analito) hacia una entrada y la entrada opuesta se alimenta mediante una disolución tampón. A pequeñas dimensiones, los líquidos fluyen en ausencia de mezclado turbulento e inercia; por tanto, la sangre y el tampón fluyen en corrientes paralelas. Los microcanales son preferentemente de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 200 μm , más preferentemente de aproximadamente 75 y aproximadamente 150 μm y lo más preferentemente de aproximadamente 100 μm de diámetro.

Preferentemente, el bombeo de los líquidos a través de los canales de una manera controlada se realiza mediante drenaje o un vacío en el que se rompe una membrana por la activación de las microagujas para crear una fuerza de tracción presurizada que lleva el líquido a su través. Los canales pueden producirse mediante moldeo por inyección de precisión o grabado con láser.

El tamaño del canal así como la química de superficie de la micromatriz pueden ajustarse para corresponderse con el tamaño de las medidas de analitos. Puede incluirse además la adición de un sistema de bombeo neumático y válvulas de líquido o un sistema de micro-PCR y químicas nuevas para mejorar la sensibilidad.

El sistema de microcanales permite que se produzca un acontecimiento de unión controlado por difusión o bien en la superficie de un canal funcionalizado o bien en una fibra funcionalizada roscada en el medio del canal para la optimización del área superficial óptica. Esto permite que un sensor basado en onda evanescente detecte el analito de un fluido tal como sangre completa, penetrando sólo aproximadamente 1000 Angstroms en la superficie. Alternativamente, en el caso de la fibra embebida en el medio de la corriente, la difusión y la separación pueden permitir un sistema incluso más sencillo en el que pueden tomarse lecturas a ambos lados de la fibra.

La fabricación de canales microfluídicos en los dispositivos de la invención puede llevarse a cabo utilizando tecnología de Micronics, Inc de Redmond, WA. Específicamente, la tecnología de material laminado de plástico de película fina permite la creación de dispositivos monofluídicos tridimensionales mediante corte por láser. Las características se cortan en películas de plástico y luego se estratifican posteriormente entre sí en la orientación apropiada para formar una red microfluídica. Alternativamente, los canales pueden hacerse de polidimetilsiloxano (PDMS), por ejemplo, utilizando técnicas de litografía blanda (Duffy *et al.*, Anal Chem., 1998). Adicionalmente, los canales pueden someterse directamente a grabado en silicio. Una vez fabricados los canales, pueden introducirse entonces los agentes en el dispositivo inmovilizándolos a una superficie de vidrio. Una superficie de vidrio puede unirse al canal formando la "tapa" o superficie superior del canal, de manera que la corriente de tampón entra en contacto con la superficie cargada de anticuerpo. Alternativamente, la superficie de vidrio es fibra óptica de vidrio. La fibra óptica puede ser o bien una fibra unimodal o bien preferentemente una fibra multimodal. Una o más fibras pueden roscarse a través del centro del canal. En este caso, el canal puede deslizarse al interior de dos corrientes de sangre que rodean a una corriente de tampón central y podría producirse la difusión desde ambas direcciones.

A diferencia del material celular y las macromoléculas, moléculas tales como los analitos diana pueden pasar a través de la superficie de contacto de líquido / líquido de tampón / sangre mediante difusión. Puesto que la tasa de difusión es inversamente proporcional al tamaño molecular, un fármaco de molécula pequeña migrará mucho más rápido que o bien las células o bien las proteínas portadas por la sangre. Esto crea de manera efectiva una separación por tamaños.

En una forma de realización, el canal se diseña de manera que sólo difundan las moléculas de fármaco hasta la pared opuesta del microcanal (adyacente a la corriente de tampón). Esta pared constituye una micromatriz tal como se define en la presente memoria, ya que puede recubrirse con una cantidad predeterminada de anticuerpos anti-fármaco que se unen previamente con moléculas de fármaco marcadas de manera fluorescente. Surge un intercambio de equilibrio de manera que parte de las moléculas de fármaco marcadas se desplazan de forma competitiva por los fármacos no marcados que han difundido hacia la pared (figuras 8, 19). La tasa de intercambio depende de la concentración, dando así una medida de la concentración de fármaco en la sangre. Es importante reconocer que como inmunoanálisis, lo anterior puede adaptarse para detectar prácticamente cualquier analito para el que puede generarse un anticuerpo.

En la realización anterior, la interacción entre el agente bioactivo y el analito que se está detectando, tiene lugar en el lado de tampón del canal, y puede realizarse una medición de fluorescencia mediante un espectrómetro de TIRF utilizando una muestra de sangre completa. Como tal, la detección de fluorescencia tiene lugar en el lado de tampón del canal y no resulta impedida por los restos fluorescentes en la muestra de sangre completa. Adicionalmente, puesto que la medición se realiza en microcanales, sólo son necesarios volúmenes muy pequeños de muestra.

En la realización de parche preferida que presenta una micromatriz de anticuerpos anti-glucosa, puede medirse la concentración de glucosa en una muestra de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,4 μ l, preferentemente, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,3 μ l y lo más preferentemente de 0,1 a 0,2 μ l de sangre. En otra forma de realización de parche preferida que presenta una micromatriz de anticuerpos anti-vancomicina, puede medirse la concentración de vancomicina en una muestra de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,4 μ l, preferentemente de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,3 μ l y lo más preferentemente de 0,1 a 0,2 μ l de sangre. Adicionalmente, en estas formas de realización, pueden realizarse mediciones muy rápidas de menos de aproximadamente un minuto.

Todavía en una forma de realización adicional, el dispositivo monitoriza la concentración de un analito y libera el agente terapéutico en respuesta a la concentración de analito. Preferentemente, el analito es un fármaco particular o un metabolito de ese fármaco y el agente terapéutico es el propio fármaco. Esta configuración es particularmente deseable cuando un fármaco presenta un estrecho intervalo terapéutico y es importante para mantener una determinada concentración del analito / fármaco en el torrente sanguíneo o en un sitio particular dentro del organismo. Por consiguiente, cuando el dispositivo detecta una disminución en la concentración del fármaco o en alguno de sus metabolitos en el torrente sanguíneo o en un sitio particular dentro del organismo, el dispositivo puede liberar una cierta cantidad del propio fármaco para ajustar la concentración de fármaco sistémica o local de nuevo al nivel deseado. Por ejemplo, insulina o antibióticos tales como vancomicina, pueden ser tanto el agente terapéutico como el analito diana.

La invención también contempla un dispositivo médico que puede administrar de manera localizada uno o más agentes terapéuticos tras la detección de un analito indicativo de enfermedad, es decir, un analito marcador de enfermedad. En otra forma de realización de este aspecto de la invención, el dispositivo libera un único agente terapéutico en respuesta a la detección de varios marcadores de enfermedad. Alternativamente, el dispositivo puede liberar diferentes agentes terapéuticos apropiados para la detección de diferentes marcadores de enfermedad. En otra forma de realización, el fármaco se libera a través de microagujas. En otra forma de realización, un agente terapéutico puede liberarse en un compartimento de solución salina dentro del dispositivo que sirve como líquido portador. Todavía en otra forma de realización de este aspecto de la invención, se llenan liposomas con un agente terapéutico y los liposomas se recubren con anticuerpos que se unen específicamente a un tipo de célula específica. Este procedimiento permite la administración de grandes cantidades de fármaco al tipo celular apropiado tras la detección de un marcador de enfermedad.

El dispositivo puede contener uno o más depósitos que comprende(n) agente(s) terapéutico(s). El depósito contiene agente terapéutico hasta que se dirige por el dispositivo de reconocimiento biológico tras la detección de un marcador de enfermedad, para liberar el agente terapéutico de forma controlada, por ejemplo, recibe la instrucción en cuanto a la tasa de liberación y la cantidad de agente que debe liberarse. Alternativamente, puede programarse una tasa o dosis de liberación única en el dispositivo. El depósito puede contener una mezcla de uno o más agentes terapéuticos. Alternativamente, el dispositivo puede comprender varios depósitos de uno o más agentes terapéuticos. Preferentemente hay una pluralidad de depósitos.

Un "agente terapéutico," tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a compuestos que son útiles en o que son apropiados para tratar una enfermedad asociada con una anomalía biológica particular indicativa de enfermedad, por ejemplo, analito marcador de enfermedad. Los agentes terapéuticos de la invención son cualquier sustancia terapéutica para el tratamiento de enfermedades incluyendo por ejemplo: compuestos farmacéuticos que se administran preferentemente de manera local tal como agentes quimioterápicos, esteroides, ácidos nucleicos terapéuticos incluyendo ADN, ARN, ARN bicatenario (por medio de superficie de contacto de ARN) y ARN antisentido, o proteínas tales como inmunoglobulinas, factores de crecimiento agentes antiinflamatorios o inhibidores enzimáticos, etc.

Mediante la liberación del agente terapéutico del dispositivo, puede ser preferible establecer una concentración local efectiva del fármaco. Por ejemplo, en formas de realización que pueden investigarse e implantarse del dispositivo, la concentración local puede superar sustancialmente la concentración sistémica segura para el propio fármaco, ahorrándole así al paciente una incomodidad sustancial maximizando aún la eficacia. En la presente memoria se engloba la liberación localizada de corticosteroides apropiados para el tratamiento de la inflamación localizada. Adicionalmente, en la presente memoria se engloba la liberación localizada de anticuerpos específicos de patógenos para el tratamiento de la infección. El médico individual puede escoger la formulación y dosificación exactas en vista del estado del paciente. (Véase por ejemplo Fingl *et al.*, en *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1975, capítulo 1 pág. 1).

En otra forma de realización, se detecta un analito biológico indicativo de proliferación celular no deseada y es preferible liberar localmente agente(s) terapéutico(s) que presenta(n) un efecto antiproliferativo. Por ejemplo, sirolimús (rapamicina) o paclitaxel son muy efectivos en la inhibición de la proliferación de células del músculo liso durante la hiperplasia de la neoíntima.

5 En otro ejemplo para responder a la presencia de analitos biológicos indicativos de proliferación no deseada, se libera del dispositivo médico quimioterapia basada en 5-FU que comprende la administración de 5-FU, sus derivados, solos o con otros agentes quimioterápicos, tales como leucovorina o con un inhibidor de DPD tal como uracilo, 5-etiniluracilo, bromoviniluracilo, timina, benciloxibenciluracilo (BBU) o 5-cloro-2,4-dihidroxipiridina. Además, se ha encontrado que la coadministración de un derivado de 5'-desoxi-citidina de fórmula (I) con 5-FU o un derivado del mismo mejora significativamente la administración de un agente quimioterápico de manera selectiva para tejidos tumorales en comparación con la combinación de 5-FU o un derivado del mismo con un inhibidor de DPD 5-etiniluracilo.

15 Alternativamente, los agentes genotóxicos son aquellos que forman lesiones genómicas persistentes y se prefiere para su utilización como agentes quimioterápicos en el tratamiento clínico de la proliferación celular no deseada. La tasa de reparación celular del daño en ADN inducido por genotoxinas, así como la tasa de crecimiento celular a través del ciclo de división celular, afecta al desenlace de la terapia con genotoxinas. Una clase general de compuestos genotóxicos que se utilizan para tratar muchos cánceres son los agentes alquilantes de ADN y los agentes de intercalación de ADN. Los psoralenos son compuestos genotóxicos que se sabe que son útiles en el tratamiento fotoquimioterápico de enfermedades cutáneas tales como psoriasis, vitíligo, infecciones fúngicas y linfoma cutáneo de células T. Harrison's Principles of Internal Medicine, Parte 2 Cardinal Manifestations of Disease, capítulo 60 (12ª ed. 1991). Otra clase general de compuestos genotóxicos, cuyos miembros pueden alquilar o intercalarse en el ADN, incluyen antibióticos de fuentes naturales o sintéticas. De interés particular en la presente memoria son los antibióticos antineoplásicos, que incluyen pero no se limitan a las siguientes clases de compuestos representados por: amsacrina; actinomicina A, C, D (conocida alternativamente como dactinomicina) o F (alternativamente KS4); azaserina; bleomicina; carminomicina (carubicina), daunomicina (daunorubicina), o 14-hidroxi-daunomicina (adriamicina o doxorubicina); mitomicina A, B o C; mitoxantrona; plicamicina (mitramicina); y similares. Todavía otra clase general de agentes genotóxicos que se utilizan comúnmente y que alquilan el ADN, son aquellos que incluyen las haloetilnitrosoureas, especialmente las cloroetilnitrosoureas. Miembros representativos de esta amplia clase incluyen carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina y estreptoizotocina. Los primeros agentes de haloetilnitrosourea pueden ser análogos o derivados de cualquiera de los compuestos representativos anteriores.

35 Los tumores tratables en la actualidad mediante compuestos de coordinación de platino tales como cisplatino u oxaliplatino incluyen los carcinomas de testículo, de endometrio, de cuello uterino, gástrico, de células escamosas, corticosuprarrenal y de pulmón de células pequeñas junto con meduloblastomas y neuroblastomas. Otros agentes terapéuticos anticancerígenos citotóxicos incluyen, por ejemplo, BEP (bleomicina, etopósido, cisplatino) para cáncer de testículo, MVAC (metotrexato, vinblastina, doxorubicina, cisplatino) para cáncer de vejiga, MVP (mitomicina C, vinblastina, cisplatino) para el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas.

45 Todavía otra clase general de agentes genotóxicos, cuyos miembros alquilan el ADN, incluyen las mostazas de azufre y nitrógeno. Estos compuestos dañan el ADN principalmente formando aductos covalentes en el átomo N7 de la guanina. Miembros representativos de esta amplia clase incluyen clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán, mecloroetamina, novembicina, trofosfamida y similares. También pueden utilizarse como agentes genotóxicos, oligonucleótidos o análogos de los mismos que interaccionan de manera covalente o no covalente con secuencias específicas en el genoma de células seleccionadas, si se desea seleccionar una o más dianas genómicas predefinidas como el locus de una lesión genómica.

50 Otra clase de agentes, cuyos miembros alquilan el ADN, incluyen las etileniminas y metilmelaminas. Estas clases incluyen altretamina (hexametilmelamina), trietilenfosforamida (TEPA), trietilentiofosforamida (TioTEPA) y trietilenmelamina, por ejemplo.

55 Clases adicionales de agentes alquilantes de ADN incluyen los sulfonatos de alquilo, representados por busulfán; las azinidinas, representadas por benzodepa; y otros, representados por, por ejemplo, mitoguazona, mitoxantrona y procarbazona. Cada una de estas clases incluye análogos y derivados de los compuestos representativos respectivos.

60 Ejemplos adicionales de agentes terapéuticos citotóxicos son anticuerpos que se complejan con un complemento sérico que activa un anticuerpo específico de célula y/o median la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. Los anticuerpos que se unen a las células también pueden conjugarse con una toxina (inmunotoxinas). El grupo citotóxico de la inmunotoxina puede ser un fármaco citotóxico o una toxina enzimáticamente activa de origen bacteriano o vegetal, o un fragmento enzimáticamente activo de tal toxina. Las toxinas enzimáticamente activas y fragmentos de las mismas utilizados son la toxina diftérica, fragmentos activos que no se unen de la toxina diftérica, exotoxinas (de *Pseudomonas aeruginosa*), ricina, abrina, modeccina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas de diantina, proteínas de *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*,

curcina, crotina, inhibidor de *Sapaonaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, y enomicina. En otra forma de realización, los anticuerpos se conjugan con fármacos anticancerígenos de molécula pequeña. Los conjugados del anticuerpo monoclonal y tales restos citotóxicos se obtienen utilizando una variedad de agentes de acoplamiento de proteínas bifuncionales. Ejemplos de tales reactivos son SPDP, IT, derivados bifuncionales de imidoésteres tales como un HCl de dimetil adipimidato, ésteres activos tales como suberato de disuccinimidilo, aldehídos tales como glutaraldehído, compuestos de bis-azido tales como bis-(p-azidobenzoil)-hexanodiamina, derivados de bis-diazonio tales como bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina, diisocianatos tales como tolieno 2,6-diisocianato, y compuestos de flúor bis-activos tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno. La parte que lisa de una toxina puede unirse al fragmento Fab de los anticuerpos. Pueden obtenerse agentes radiofarmacéuticos citotóxicos para tratar el cáncer conjugando isótopos radiactivos con los anticuerpos. La expresión "grupo citotóxico" tal como se utiliza en la presente memoria pretende incluir tales isótopos.

En una forma de realización, los agentes terapéuticos son inhibidores de receptores tirosina cinasas tales como EGFR y HER2-neu y se emplean como inhibidores selectivos del crecimiento de células proliferativas tales como células cancerosas de mamífero. Por ejemplo, erstatina, un inhibidor del receptor tirosina cinasa de EGF, reduce el crecimiento de EGFR que se expresa en células de carcinoma humano. También se ha establecido que diversos derivados de estireno presentan propiedades de inhibición de tirosina cinasa y que pueden utilizarse como agentes antitumorales. Dos de tales derivados de estireno son los inhibidores de RTK de clase I cuya efectividad se ha demostrado atenuando el crecimiento del carcinoma de células escamosas humanas inyectadas en ratones atómicos. Ciertos derivados de 4-anilinoquinazolina son útiles como inhibidores de receptores tirosina cinasas. La relación muy estrecha entre estructura y actividad mostrada por estos compuestos sugiere un modo de unión definido claramente, en el que el anillo de quinazolina se une en la cavidad de adenina y el anillo de anilino se une en una cavidad adyacente lipófila única. Se han evaluado clínicamente tres análogos de 4-anilinoquinazolina (dos inhibidores reversibles y uno irreversible) como fármacos anticancerígenos. Adicionalmente, el anticuerpo monoclonal trastazumab (Herceptin™) para el tratamiento de cánceres metastáticos que sobreexpresan HER2-neu. Scheurle, *et al.*, *Anticancer Res* 20:2091-2096, 2000.

En otra forma de realización, cuando se detecta un analito biológico indicativo de un patógeno microbiano, es preferible liberar localmente agente(s) terapéutico(s) que presenta(n) un efecto antimicrobiano. Por ejemplo, es preferible liberar un antibiótico tal como antibióticos beta-lactámicos, aminoglicósidos, macrólidos, lincomicina y clindamicina, tetraciclinas, quinolonas, sulfonamidas, trimetoprim-sulfametoxazol y específicamente: amoxicilana, amoxiciliana, Amoxicilina, ampicilina, Augmentin, Bactrim, BIAVIN, Ceclor, CEFTIN, Cipro, clindamicina, Decadron, Diflucan, doxiciclina, eritromiicina, eritromicina, Eritromicina, Flagyl, Floxin, Keflex, Levoxyll, macrobid, metronizadol (Flagyl), Minocin, minociclina / Minocin, nizarol, norfloxacin, nistatina, penicilina, Polarol, Rocefin, Sulfa, Septra, estreptomycin, tequina, tetraciclina, tinidazol, Valtrex, vibramicina, Zithromax, o zitromicina.

Tras la detección de analitos biológicos indicativos de infección viral, es preferible liberar compuestos antivirales incluyendo inhibidores de proteasas tales como Inivirase, Norvir, Viracept, Crixivan, o Frotovase, Saquinavir u otros agentes antivirales tales como amantadina, rimantadina, zanamivir, oseltamivir, ribavirina, AZT, didanosina, zalcitabina, estavudina, lamivudina, nevirapina, delavirdina, idoxuridina, vidarabina, trifluridina, aciclovir, famciclovir, penciclovir, valaciclovir, ganciclovir, foscarnet, ribavirina, amantadina y rimantadina, cidofovir, interferones.

En otra forma de realización, cuando se detecta un analito biológico indicativo de inflamación, es preferible liberar localmente agente(s) terapéutico(s) que presenta(n) un efecto antiinflamatorio. Preferentemente, tales agentes terapéuticos son esteroides tales como prednisona/prednisolona, o fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) tales como aspirina, ibuprofeno, naproxeno, nabumetona, celecoxib, rofecoxib o valdecoxib. Tales agentes son particularmente apropiados para el tratamiento de enfermedades relacionadas con inflamación tales como la enfermedad inflamatoria del intestino, la artritis reumatoide y similares.

En otra forma de realización, cuando se detecta un analito biológico indicativo de hiperglucemia, es preferible que el dispositivo libere un agente terapéutico que reduzca los niveles séricos de glucosa. Por ejemplo, cuando se detectan niveles de glucosa excesivamente altos por el dispositivo, el dispositivo responderá liberando una cantidad suficiente de insulina para llevar los niveles de glucosa excesivamente altos en la sangre de nuevo a la normalidad.

La invención prevé que el dispositivo médico presente una pluralidad de microchips. Preferentemente, los microchips presentan la mayor capacidad de procesamiento actualmente disponible. Preferentemente, la pluralidad de microchips están todos en comunicación entre sí. Lo más preferentemente, los microchips están hechos de silicio y germanio. Incluso más preferentemente, los microchips son chips de alto rendimiento de aislamiento dieléctrico de baja k CMOS 9S de International Business Machines (IBM) para proporcionar adicionalmente la mayor eficiencia, velocidad y potencia disponible para hacer funcionar el dispositivo médico. El experto en la materia puede apreciar fácilmente que el dispositivo puede presentar un número variable de microchips debido al hecho de que los dispositivos enumerados más adelante pueden incluirse en un número variable de microchips.

Además, cada componente tecnológico del dispositivo se optimiza mediante el procedimiento en el que se integra de manera única en este sistema. Recientemente, la tecnología de silicio y germanio, de aislamiento dieléctrico de baja k ha maximizado la eficiencia y las capacidades de procesamiento de microchips. Estos chips son ideales para

redes de comunicaciones ópticas y combinándolos con tecnología de perlas de micromatrices, que conducen datos por medio de señalización foto-óptica, se optimiza la potencia tras ambos sistemas.

5 Otra característica de la invención se refiere a un dispositivo de liberación de agente terapéutico que puede controlar la liberación de agente terapéutico de un depósito. Por ejemplo, cuando el dispositivo de reconocimiento biométrico determina la presencia de un marcador de enfermedad, el dispositivo de liberación de agente terapéutico recibe señales para liberar el agente terapéutico de un depósito de una forma controlada, es decir, recibe instrucciones en cuanto a la tasa de liberación y/o la cantidad de fármaco que ha de liberarse. En una forma de realización, el dispositivo de liberación de agente terapéutico es un microchip ubicado por debajo de los microchips que contienen el dispositivo enumerado anteriormente e incluye depósitos para la liberación controlada de agentes terapéuticos. El sustrato del microchip contiene los depósitos gravados, moldeados o mecanizados y sirve como soporte para el microchip. Cualquier material que pueda servir como soporte es adecuado para el grabado, moldeado o mecanizado, y es impermeable a las moléculas que van a administrarse y a los líquidos circundantes, por ejemplo, agua, disolventes orgánicos, sangre, electrolitos u otras disoluciones, que pueden utilizarse como sustrato. Ejemplos de materiales de sustrato incluyen polímeros degradables y no degradables, semiconductores y cerámicos. Se prefiere que el propio sustrato sea no tóxico, estéril y biocompatible. No obstante, pueden encapsularse materiales tóxicos o en cualquier caso no biocompatibles en un material biocompatible, tales como materiales de tipo tetrafluoroetileno o polietilenglicol, antes de su utilización. Véase la patente US n.º 6.491.666. Un dispositivo de liberación de agente terapéutico adecuado está disponible de Microchips (Cambridge, MA). Preferentemente, el dispositivo de liberación de agente terapéutico presenta una pluralidad de depósitos. En otra forma de realización de este aspecto de la invención, el dispositivo de liberación de agente terapéutico envía señales a los otros dispositivos o a una base de datos externa sobre el estado de liberación de agente terapéutico apropiada. Todavía en otra forma de realización, la liberación del agente terapéutico se realiza en pequeñas dosis que sirven como tratamiento preliminar mientras que el agente terapéutico pasa a través de microchips adicionales con sistemas de señalización inalámbricos independientes que sirven como puntos de verificación para garantizar la dosificación correcta antes de la administración.

30 Otra característica de la invención se refiere a un dispositivo de interfaz que puede facilitar las comunicaciones entre el dispositivo de exploración de micromatrices, el dispositivo de reconocimiento biológico, y opcionalmente, el dispositivo de liberación de agente terapéutico. Preferentemente, el dispositivo de interfaz recibe información con respecto a la presencia; ausencia o cantidad de un analito del dispositivo de reconocimiento biológico y envía señales al dispositivo de liberación de agente terapéutico para la liberación un agente terapéutico o mezcla de agentes de uno o más depósitos. En una forma de realización, el dispositivo de interfaz presenta un transmisor y receptor de red de área local inalámbrica (WLAN). En particular, véanse las patentes US n.º 5.832.296 ó 6.542.717. En otra forma de realización, la invención contempla la utilización de una comunicación electrostática de red de área personal (PAN) para transmitir señales entre microchips y utiliza un dispositivo de liberación de agente terapéutico asociado con depósitos para liberar el agente terapéutico con el fin de administrar fármacos al organismo tras recibir señales respectivas a partir del análisis en el dispositivo de reconocimiento biológico. Preferentemente, en formas de realización implantables e ingeribles, se ubican dos transmisores de PAN contiguos por debajo de la micromatriz (uno contiguo al dispositivo de exploración de micromatrices y el otro contiguo al dispositivo de liberación de agente terapéutico que controla el depósito de debajo). Los transmisores de PAN envían señales para la liberación de agente terapéutico tal como especifican los resultados de la matriz. Puede obtenerse hardware apropiado de Interval Research Corp., Palo Alto, CA y transmisores de PAN de International Business Machines Corp., Armonk, NY.

45 En otra forma de realización de este aspecto de la invención, la pluralidad de microchips transmiten su información a fuentes externas tales como un dispositivo de monitorización u ordenadores portátiles en sedes en red que operan mediante sistemas de comunicaciones de datos inalámbricos. En una forma de realización adicional, cuando el dispositivo es un parche para tratar la diabetes, el parche mide los niveles de insulina y se comunica con un segundo dispositivo que mide los niveles de hidratos de carbono o con un tercer dispositivo que mide los niveles de arritmia o de las glándulas sudoríparas. Una decisión de control del proceso a través de una comparación de las interacciones entre analitos y los diferentes dispositivos y la base de datos de parámetros físicos determinará si una liberación de una cantidad de glucosa o insulina es apropiada, formando un sistema de bucle cerrado que representa otros factores imperativos en la determinación de la liberación de glucosa/insulina.

50 En una forma de realización, la invención presenta una fuente de energía para hacer funcionar el dispositivo médico. Por ejemplo, el dispositivo se hace funcionar mediante una batería. En otra forma de realización, la fuente de energía se proporciona mediante una red de área personal

60 Las aplicaciones de esta invención oscilan entre la utilización militar y la comercial. Por ejemplo, el dispositivo podría utilizarse por civiles en países aquejados por virus tales como SARS donde el diagnóstico en tiempo real adquiere una importancia sustancial. Con el aumento del terrorismo biológico, los procedimientos de detección de patógenos adquieren cada vez más valor para los ministerios de defensa en todo el mundo. Asimismo, la invención podría utilizarse para detectar infecciones bacterianas u otras enfermedades relacionadas con el intestino y para realizar un diagnóstico en tiempo real inmediato de la actividad de las proteínas cuando se desplazan a través del sistema intestinal en vista de que el intestino es uno de los principales centros para el crecimiento de enfermedades infecciosas. Asimismo, podrían maximizarse las aplicaciones de tecnología de micromatrices de proteínas que

actualmente están limitadas por problemas tales como el aislamiento de BSA o ligandos de proteínas de alta afinidad y especificidad que ocultan péptidos de interés en portaobjetos con aldehídos mediante la utilización de matrices de proteínas selectivas *in vivo* y la dispersión de anticuerpos o fármacos correspondientes a las clases de proteínas seleccionadas como objetivo. Adicionalmente, los dispositivos de la invención podrían ser particularmente útiles para fines de investigación de análisis clínicos para la monitorización eficiente de los niveles y efectos de fármacos experimentales para desarrollar modelos farmacocinéticos.

De hecho, podría haber aplicaciones comerciales, médicas, de investigación / educación y militares y de servicio a la comunidad / humanitarias de este dispositivo.

Ejemplos

Ejemplo 1: Especificaciones de biosensor de fluorescencia de reflexión interna total de fibra óptica

Se construyó un biosensor de fluorescencia de reflexión interna total (TIRF) de fibra óptica y constituye una micromatriz y un dispositivo de exploración de micromatrices tal como se define en esta memoria descriptiva. Véase Preininger *et al.* (Analytica Chimica Acta, 2000, 403, 67-76). Se dirige luz láser desde la fuente de luz láser hacia la célula de flujo hacia el detector, todo ello a través de una serie de fibras ópticas. Un esquema de esta unidad basada en fibra óptica se muestra en la figura 12. En el sensor, se dirige la luz láser incidente a través del tramo de salida de un divisor de fibras ópticas 50:50 sobre la fibra funcionalizada. La fluorescencia emitida se acopla de vuelta en la fibra y se propaga hacia el detector con poca interferencia de la luz láser. Este diseño presenta varias ventajas: La utilización de principio a fin de las fibras elimina pérdidas debidas a acoplamiento con espacios libres; las fibras son transportadores robustos de luz y por tanto son insensibles a la vibración y pueden unirse fácilmente múltiples fibras entre sí mediante conectores de fibra óptica disponibles comercialmente. Por tanto, una micromatriz puede ser o bien la superficie funcionalizada de una fibra o bien las superficies funcionalizadas de una pluralidad de fibras.

En la tabla 1, se muestra la intensidad de fluorescencia de salida esperada suministrada al fotodiodo como función de la potencia de láser incidente y de las características de la fibra del fluoróforo Atto 655 (véase la figura 13), utilizando la metodología descrita en Celebre *et al.* (Measurement Science and Technology, 1992, 3, 1166-1173) con los siguientes parámetros de sistema:

- una concentración de superficie de - 200 ng/cm² [Tedeschi *et al.*, Biosensors and Bioelectronics, 2003, 19(2), 85-93]
- el fluoróforo Atto 655 (Sigma Aldrich) con características espectrales $QY = 0,3$ $\epsilon = 110.000$

Tabla 1: Salida de fluorescencia como función de la potencia de láser y las características de la fibra

Longitud de la fibra (cm)	Potencia de láser incidente (mW)	Diámetro de la fibra (μm)	Potencia de salida (μW)
1	0,5	62,5	82
1	0,5	200	163
1	1,0	62,5	163
1	1,0	200	327
1	3,0	62,5	489
1	3,0	62,5	489
1	3,0	200	980
1	3,0	200	980
1	5,0	62,5	815
1	5,0	200	1.630
3	0,5	62,5	244
3	0,5	200	490
3	3,0	62,5	1.470
3	3,0	200	2.940
5	0,5	62,5	407
5	0,5	200	817
5	3,0	62,5	2.440
5	3,0	200	4.900

Un fotodiodo típico (por ejemplo Pacific Sensor parte 1-6-T052S1) mide con exactitud señales en el intervalo de picovatios. Queda claro que incluso con una estimación conservadora del 50% de pérdidas en el sistema, pueden ajustarse los parámetros del biosensor de manera que la potencia de salida sea dos órdenes de magnitud mayor que el mínimo de sensibilidad del detector.

5

Ejemplo 2: Sistema de parche integrado

El dispositivo de parche a modo de ejemplo representa un procedimiento indoloro de extracción y toma de muestras de manera automática de 0,1 ml de sangre para la determinación de vancomicina. Cada parche consiste en dos partes, una parte desechable (dispositivo de análisis) que contiene un microcanal y microagujas de utilización única, y una parte reutilizable que contiene los elementos ópticos, electrónicos y mecánicos restantes (dispositivo lector de análisis). Figuras 5, 7

Las microagujas extraen automáticamente pequeñas cantidades de sangre de manera indolora. Un actuador mecánico inserta y retira la aguja. Los dispositivos de la invención realizan varias mediciones una vez aplicado el parche. Sin embargo, cada microaguja sólo se utiliza una vez para evitar coágulos. La necesidad de múltiples extracciones de sangre requiere un actuador mecánico que no sólo inserte y retire la aguja, sino que también deseché la aguja utilizada y recargue una nueva aguja. Las microagujas son lo suficientemente afiladas, robustas y diminutas como para penetrar en la capa exterior de la piel de una manera completamente indolora. Su diseño contribuye a la naturaleza de bajo coste, desechable, empleada por uno mismo, biocompatible del dispositivo.

Las agujas se producen de manera fotolitográfica en moldes en SNF. Los microcanales en la parte “superior” del dispositivo de análisis del dispositivo de parche contienen elementos de depósito y flujo laminar, junto con las estructuras necesarias para capturar el sensor de la fibra. Dos elementos de flujo de líquido separados operan en el parche: flujo de sangre a través de la aguja hacia un depósito y flujo de sangre / tampón a través del canal. Figura 5. La siguiente tabla muestra las especificaciones de diseño para el canal.

25

Tabla 2

	Células de la sangre	Proteínas de la sangre	Vancomicina
Tamaño hidrodinámico	~5 µm	~8 nm	~1 nm
Coefficiente de difusión (cm ² /s)	~1x10 ⁻⁹	~1x10 ⁶	1x10 ⁻⁵
Distancia de difusión (µm)	~1	~32	~100

Longitud	1 cm
Altura	100 µm
Grosor	25 µm
Altura de la tira	50 µm
Área de sección transversal	2500 µm ²
Área de sección transversal de la tira	1250 µm ²
Volumen del canal	0,125 µl
Velocidad de flujo	0,15 µl/min.
Tamaño de la muestra total	0,1 µl
Velocidad de flujo	0,1 cm/s
Tiempo de difusión	10 s
Viscosidad del tampón	0,01 cm ² /s
Número de Reynolds	0,11

30

El componente no desechable (dispositivo lector de análisis) del parche contiene 12 componentes desechables de utilización única (dispositivos de análisis) que se montarán en él. Figura 7. La fabricación monofluídica a medida se obtiene de Micronics. Las especificaciones son las siguientes:

Especificaciones

Artículo		Especificaciones
1	Carga de muestra	• Sangre completa, 100 nl
2	Superficie funcionalizada (micromatriz)	• Superficie de vidrio inmovilizada con moléculas de sensor fluorescentes preparadas tras la fabricación de la tarjeta por Client
3	Reactivos	• Tampón (solución salina tamponada con fosfato), 1-2 µl
4	Actuación de fluido	• Bombeo activo
5	Canal de detección	• Tapado en un lado por la superficie funcionalizada • El canal es de aproximadamente 100 µm de profundidad ortogonal con respecto a la superficie funcionalizada • La longitud del canal es de aproximadamente 1 cm
6	Detección	• Mediciones fluorescentes (fotomultiplicador o detector equivalente).
7	Tiempo de análisis	• Menos de 2 minutos
8	Interfaz de usuario con el dispositivo	• WLAN
9	Materiales de tarjeta	• Baja auto-fluorescencia 1

5 El dispositivo de exploración de micromatrices de sensor óptico proporciona una señal electrónica a un dispositivo de reconocimiento biológico basándose en la fluorescencia de la interacción entre el agente bioactivo y el analito excitado por una onda evanescente producida por el láser. La frecuencia del sensor óptico se determina basándose en un equilibrio de coste entre el láser, el diodo PIN y los costes de la molécula fluorescente.

10 La fibra del sensor evanescente no desechable (dispositivo de exploración de micromatrices dentro del dispositivo lector de análisis) se une al subsistema de canales fluidicos de extracción de sangre desechable (que contiene la micromatriz en el dispositivo de análisis) para crear un dispositivo de análisis de utilización única completo. El dispositivo de análisis se envasa en grupos de 6 y 12 por dispositivo lector de análisis.

15 Para las pruebas, el tamaño máximo de un sistema integrado es similar al dispositivo de medios corporales que se muestra en la figura 14.

20 La sangre fluye a través de las microagujas hacia el depósito de sangre. El tampón y la sangre forman un flujo laminar a través del canal (figura 5; mostrado en negro). Un láser de 660 nm excita el fluoróforo, que se une a la superficie de la fibra (en gris). Los fármacos en la sangre desplazan a los fármacos marcados en la fibra, y disminuye la intensidad de la fluorescencia. Un sensor en el extremo de la fibra en el lector detecta una reducción en el nivel de señal. Esta reducción se notifica a la base de datos asociada del dispositivo de reconocimiento biométrico.

25 Los dispositivos se forman en una estructura de tipo peine; el modelo de análisis de 12 unidades se muestra en la figura 7. En las figuras, los elementos electrónicos de control se montan en la parte superior del dispositivo (dispositivo lector de análisis). Los mecanismos de accionamiento están en la parte inferior del dispositivo (dispositivo de análisis).

30 La vista de extremo del lector muestra la cavidad para el dispositivo de análisis en la parte inferior del lector. Existe una superficie de contacto óptica y mecánica entre los dos componentes. A lo largo de la parte superior de la cavidad hay 12 resortes que se utilizan para forzar a las microagujas al interior de la piel. También hay un solenoide que libera el resorte. Cada resorte presiona sobre la parte superior de uno de los 12 componentes desechables.

35 Un extremo de cada uno de los dedos del dispositivo de análisis forma una bisagra dentro del dispositivo de análisis, por lo que el resorte fuerza al dispositivo de análisis hacia abajo a través de una capa de película, que cubre la parte inferior del dispositivo de análisis.

40 La fibra óptica pasa sobre la bisagra y termina en un divisor óptico, que está montado en la parte inferior de la tarjeta de circuito impreso electrónica. La superficie de contacto entre el dispositivo de análisis y el dispositivo lector de análisis es un entrehierro pequeño.

45 Esta vista de extremo de uno de los 12 dedos del dispositivo de análisis muestra el envasado. El dispositivo de análisis está dentro de un envase de parche estéril. Bajo las microagujas hay una parte del parche que está diseñada para permitir que las agujas penetren y entren en la piel. El parche se mantiene en su sitio con un adhesivo tal como se muestra en la figura 6. Finalmente hay una cubierta protectora. La parte superior del parche está diseñada para permitir la inserción en el lector. La señal óptica pasa a través de una parte de este sello entre el extremo de la fibra y el divisor.

5 En esta descripción se describen sólo las formas de realización preferidas de la invención y algunos ejemplos de su versatilidad. Ha de entenderse que la invención puede utilizarse en otras diversas combinaciones y entornos y que pueden realizarse cambios o modificaciones dentro del alcance del concepto inventivo tal como se expresa en la presente memoria. Por tanto, por ejemplo, los expertos en la materia reconocerán, o podrán determinar, sin utilizar más que experimentación de rutina, numerosos equivalentes a las sustancias y procedimientos específicos descritos en la presente memoria. Se considera que tales equivalentes están comprendidos dentro del alcance de esta invención, y están cubiertos por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo médico que puede detectar un analito (22) en un líquido corporal, que comprende:
- 5 A) al menos una microaguja (12) que puede obtener una muestra de un líquido corporal;
- B) un depósito de tampón (14);
- 10 C) un microcanal (15) que presenta al menos una primera entrada (15b), una segunda entrada (15a), y una micromatriz (4) fijada sobre el microcanal (15), comprendiendo dicha micromatriz (4) al menos un agente (23) bioactivo, en el que la primera entrada (15b) está en comunicación fluidica con dicha al menos una microaguja (12) y canaliza un flujo de líquido corporal hacia el microcanal (15), y en el que la segunda entrada (15a) conduce un flujo de tampón desde dicho depósito de tampón (14) al microcanal (15), de manera que el analito (22) en el líquido corporal se difunde hacia el flujo de tampón para llevar a cabo una interacción entre el agente (23) bioactivo y el analito (22);
- 15 D) un dispositivo de exploración de micromatrices (7) para detectar la interacción entre el agente (23) bioactivo y el analito (22) en un líquido corporal; y
- 20 E) un dispositivo de interfaz (8) que puede facilitar las comunicaciones entre dicho dispositivo de exploración de micromatrices (7) y un dispositivo de reconocimiento biométrico (9).
2. Dispositivo médico según la reivindicación 1, en el que:
- 25 (a) el líquido corporal es sangre; o
- (b) dicha al menos una microaguja (12) es una pluralidad de microagujas (12); o
- 30 (c) la microaguja (12) presenta un diámetro comprendido aproximadamente 10 y aproximadamente 200 micras; o
- (d) la microaguja (12) puede extraer aproximadamente 100 microlitros de sangre.
3. Dispositivo médico según la reivindicación 1, en el que el analito (22) en el líquido corporal desplaza de manera competitiva el analito marcado (24) de la unión del agente (23) bioactivo; en el que opcionalmente el analito marcado (24) está previsto en una cantidad predeterminada o se marca con un grupo fluorescente.
- 35 4. Dispositivo médico según la reivindicación 1, en el que:
- 40 (a) la micromatriz (4) comprende un anticuerpo que se une específicamente al analito (22) en el líquido corporal; o
- (b) el dispositivo de exploración de micromatrices (7) comprende un espectrómetro de fluorescencia de reflexión interna total (TIRF); o
- 45 (c) el dispositivo de reconocimiento biométrico (9) está situado fuera del dispositivo y la comunicación se realiza a través de transmisión inalámbrica; o
- (d) el analito (22) es indicativo de enfermedad.
5. Dispositivo médico según la reivindicación 1, en el que:
- 50 (a) el analito (22) es insulina y el agente (23) bioactivo es un anticuerpo específico para insulina; o
- (b) el analito (22) es glucosa y el agente (23) bioactivo es un anticuerpo específico para glucosa.
- 55 6. Dispositivo médico según la reivindicación 1, que comprende además:
- (a) un depósito (10) que presenta un agente terapéutico en el mismo; y
- 60 (b) un dispositivo de liberación de agente terapéutico (10), que puede controlar la liberación de un agente terapéutico desde un depósito (10) en respuesta a una instrucción del dispositivo de reconocimiento biométrico (9).
7. Dispositivo médico según la reivindicación 6, en el que:
- 65 (a) el analito (22) es glucosa y el agente terapéutico es insulina; o
- (b) el analito (22) es el mismo que el agente terapéutico; o

(c) el analito (22) es un metabolito del agente terapéutico.

- 5 8. Dispositivo médico según la reivindicación 1, que comprende al menos un dispositivo de análisis desechable (100a) que comprende dicha al menos una microaguja (12) y el microcanal (15); y un dispositivo lector de análisis no desechable (100b) que comprende el dispositivo de exploración de micromatrices (7) y el dispositivo de interfaz (8); por ejemplo, en el que (a) el dispositivo de análisis (100a) y el dispositivo lector de análisis (100b) están en comunicación óptica entre sí; o (b) existe una pluralidad de dispositivos de análisis desechables (100a) montados en un único dispositivo lector de análisis (100b).
- 10 9. Dispositivo médico según la reivindicación 1, en el que el dispositivo médico se lleva como un parche (100).

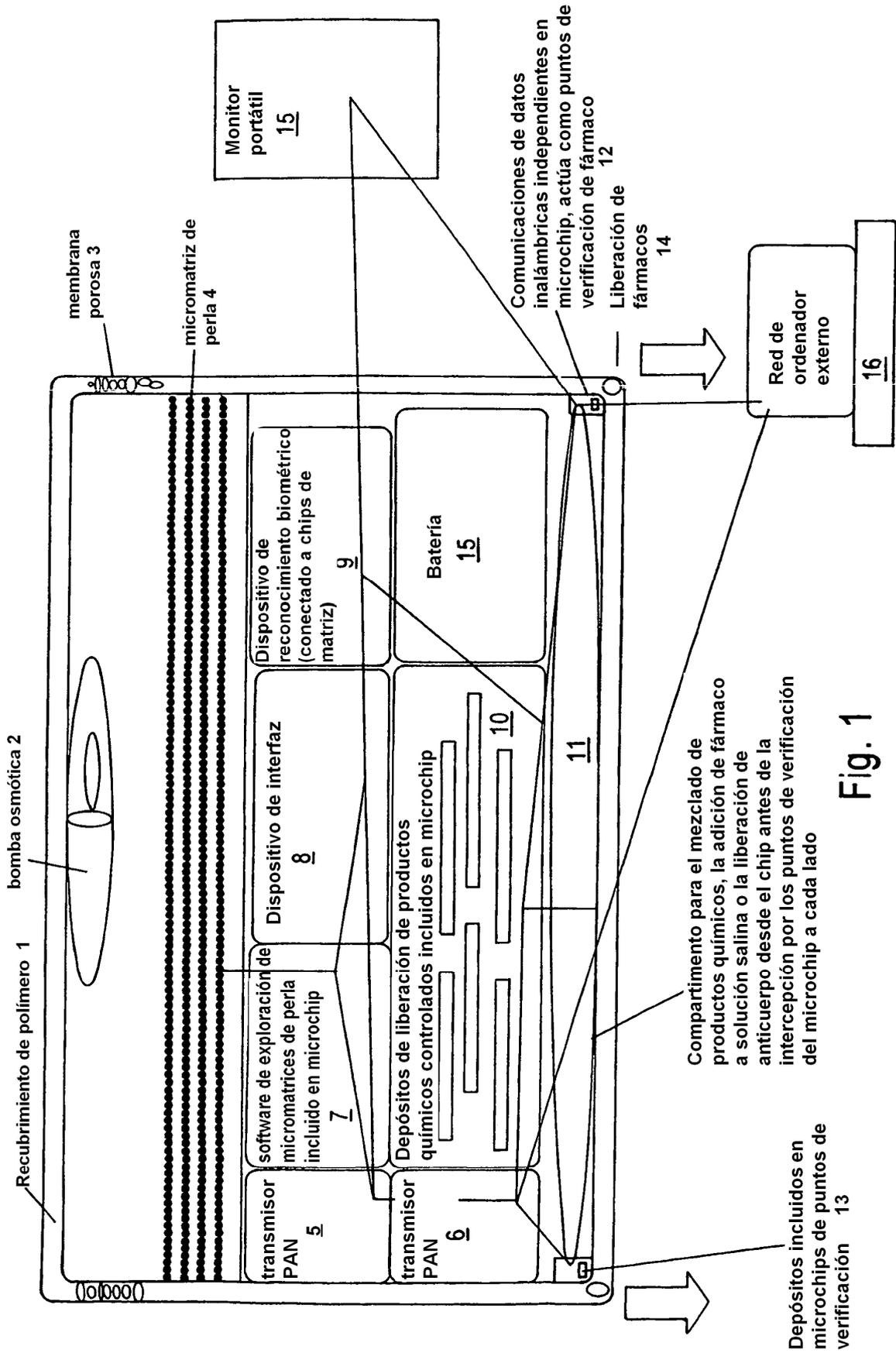


Fig. 1

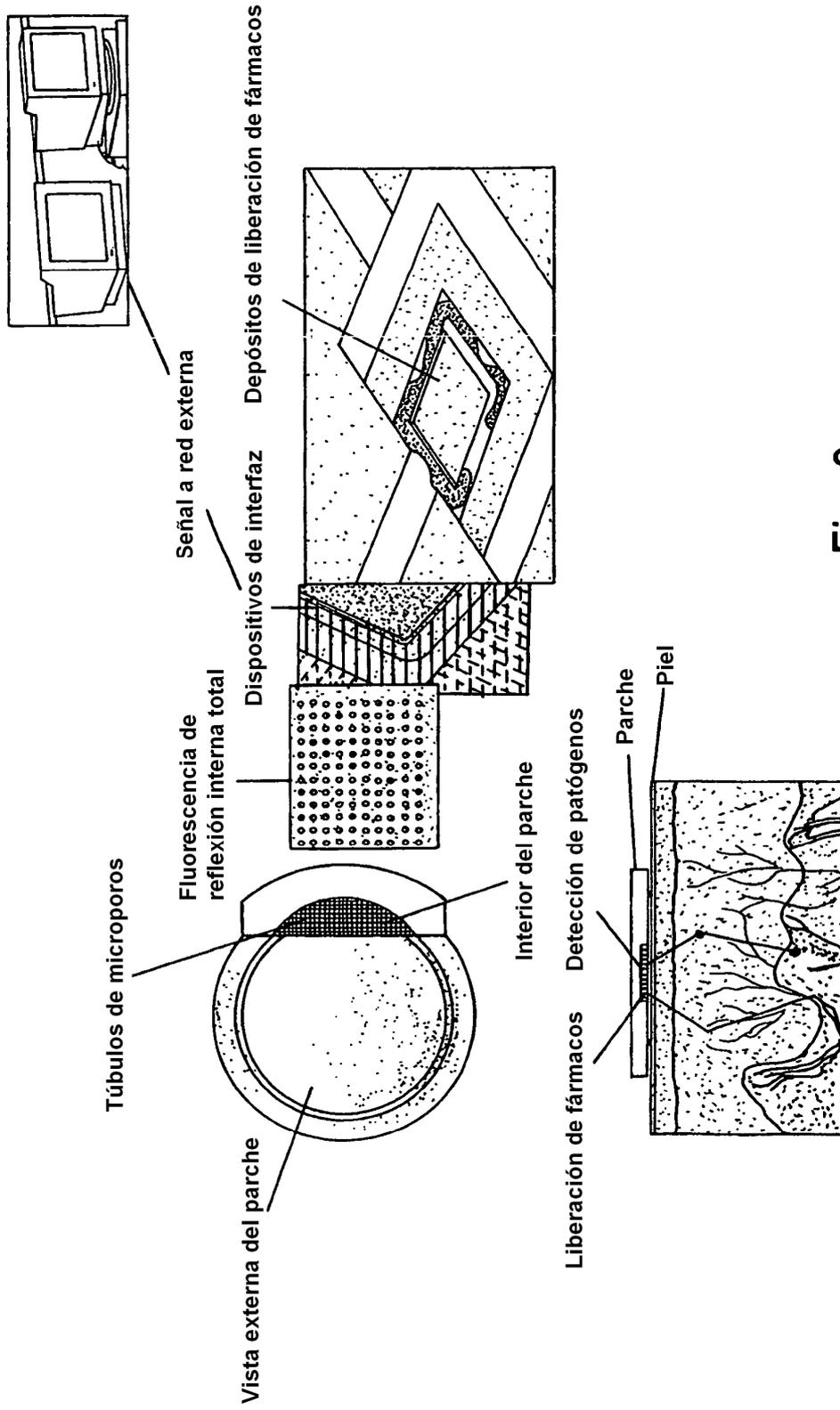


Fig. 2

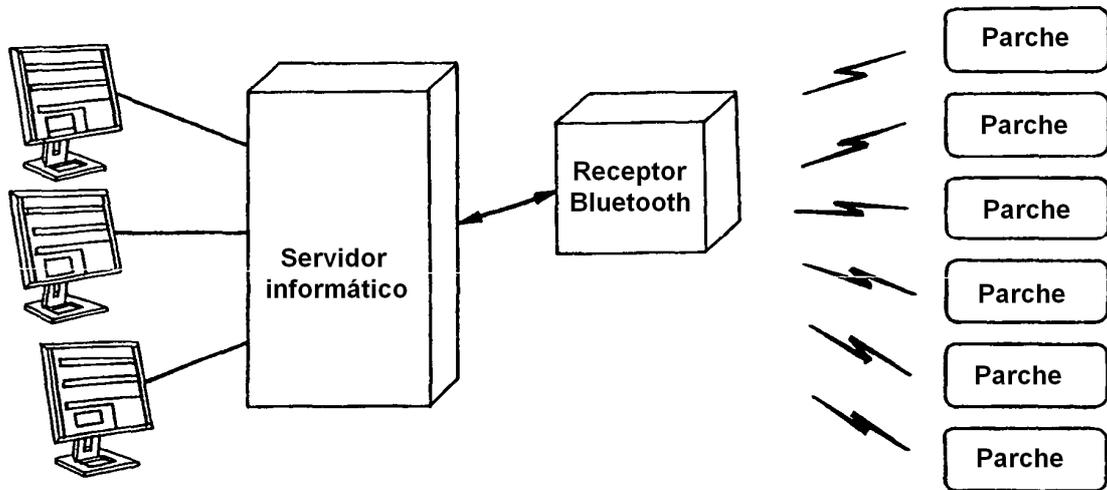
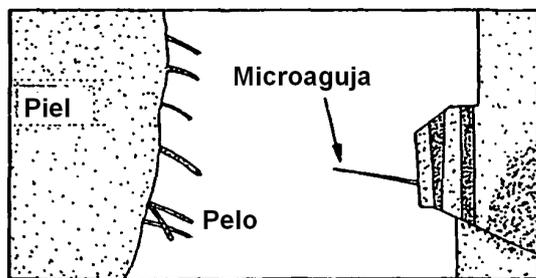
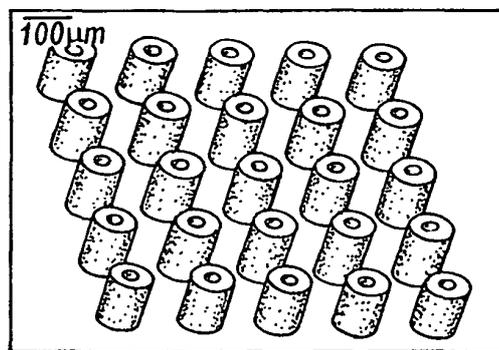


Fig. 3



La microaguja de 100 micrómetros de diámetro es de aproximadamente el diámetro del pelo humano

Fig. 4(a)



Una matriz de microagujas de silicio

Fig. 4(b)

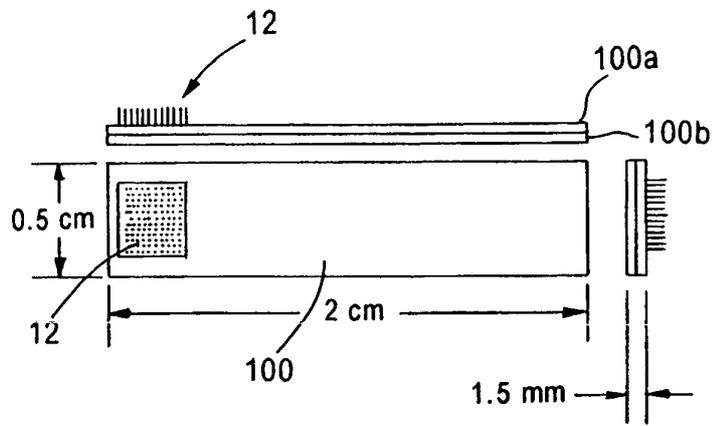


Fig. 5(a)

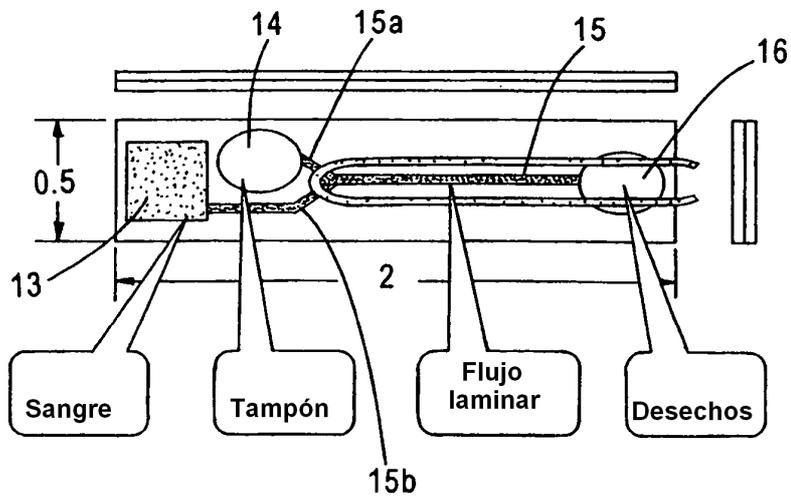


Fig. 5(b)

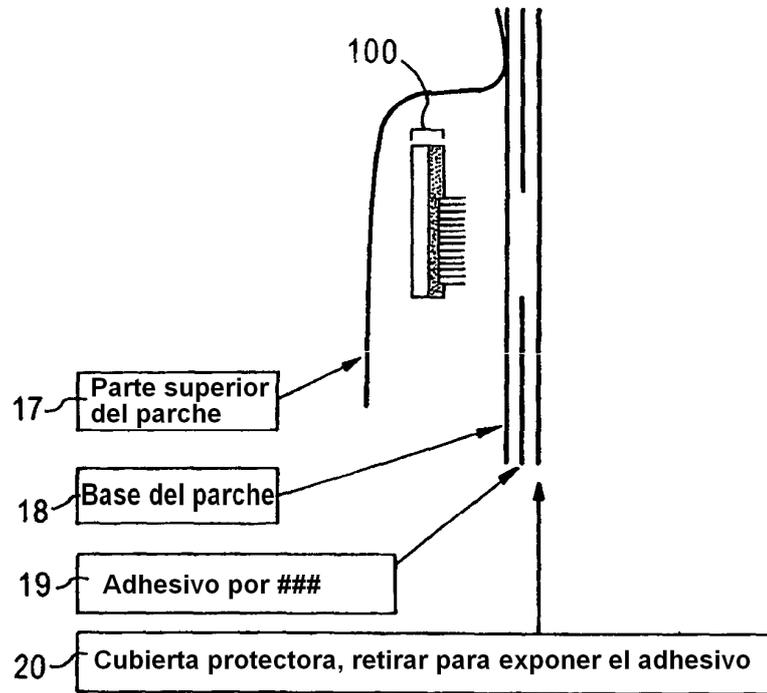


Fig. 6

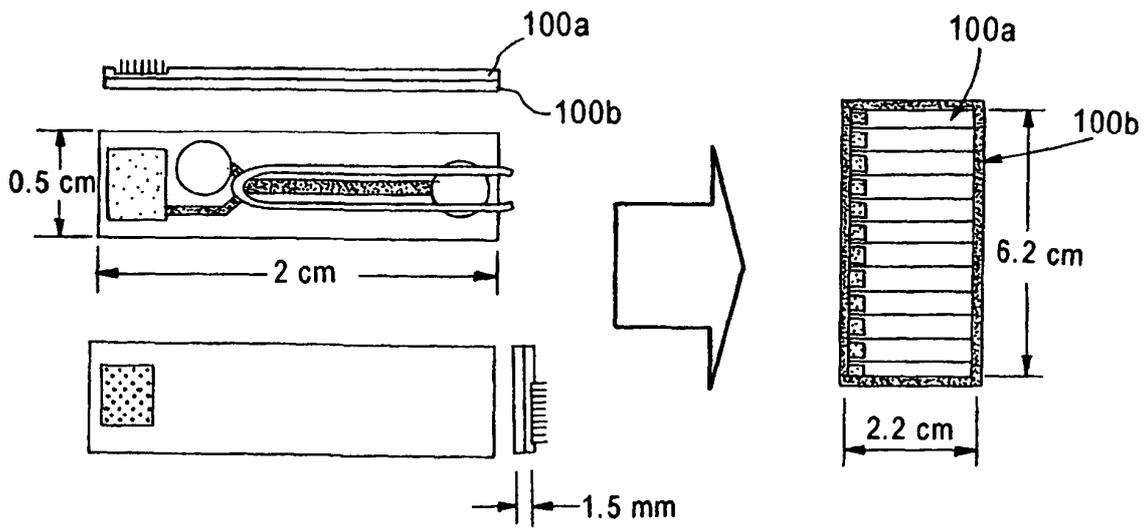
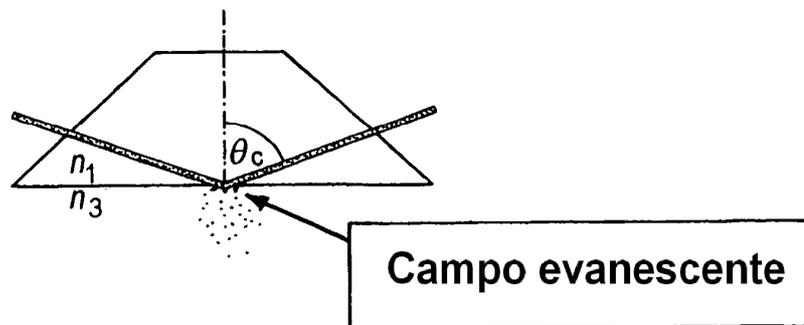
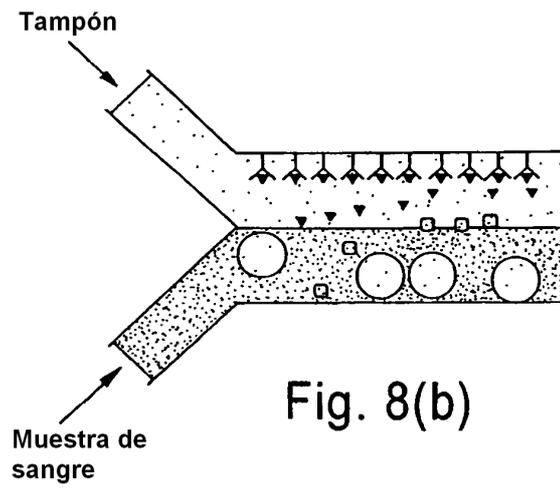
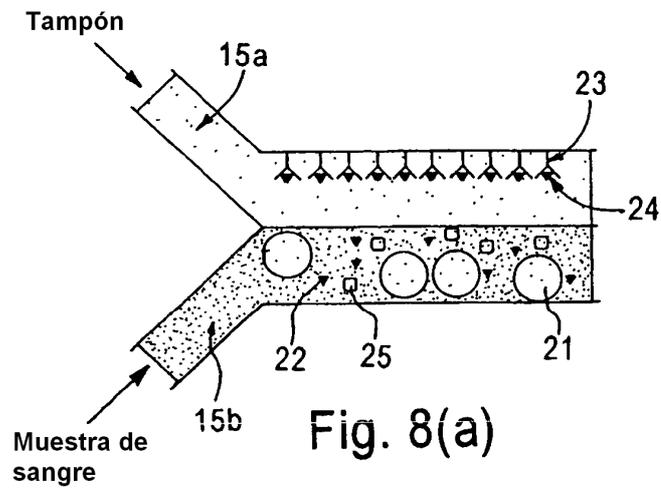
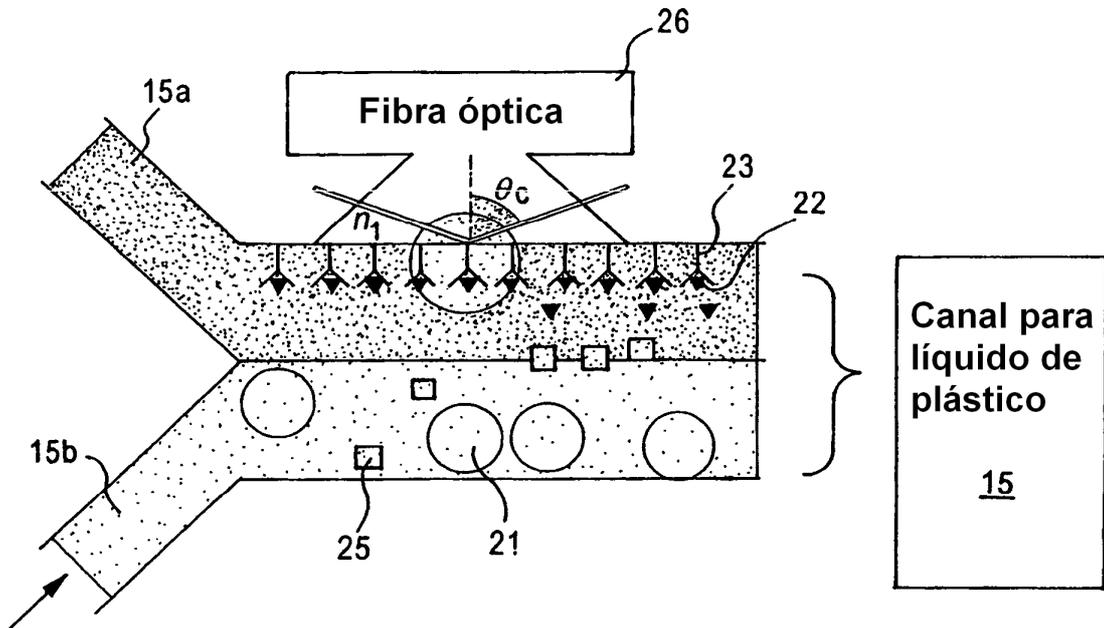


Fig. 7





Los microcanales primero y segundo están en comunicación de fluido entre sí. Sólo las moléculas pequeñas difundirán a través de la superficie de contacto difusional hasta la micromatriz, es decir, superficie de sensor funcionalizada. La detección fluorescente mediante un espectrómetro TIRF no se extiende más allá de la superficie de contacto difusional.

Fig. 10

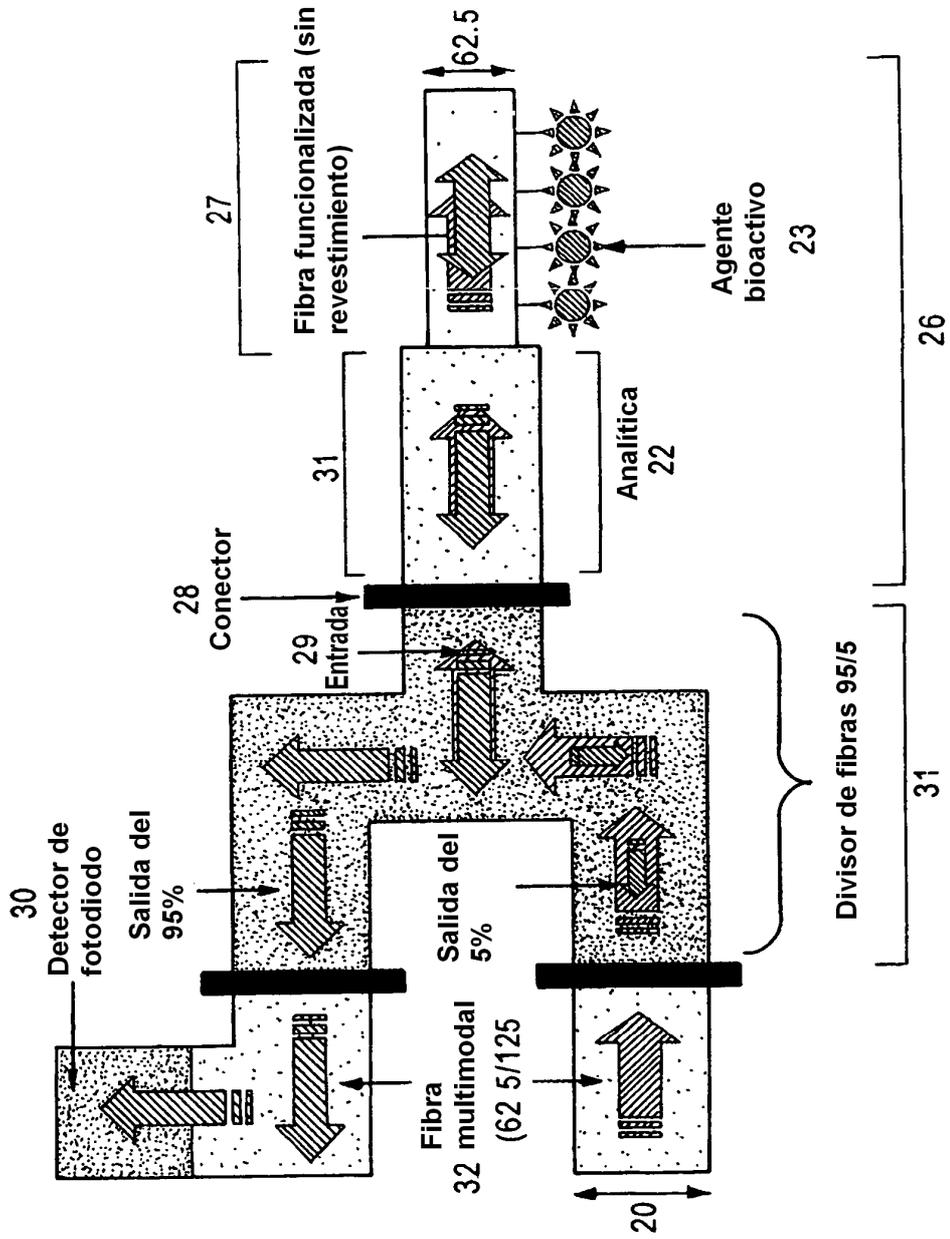


Fig. 11

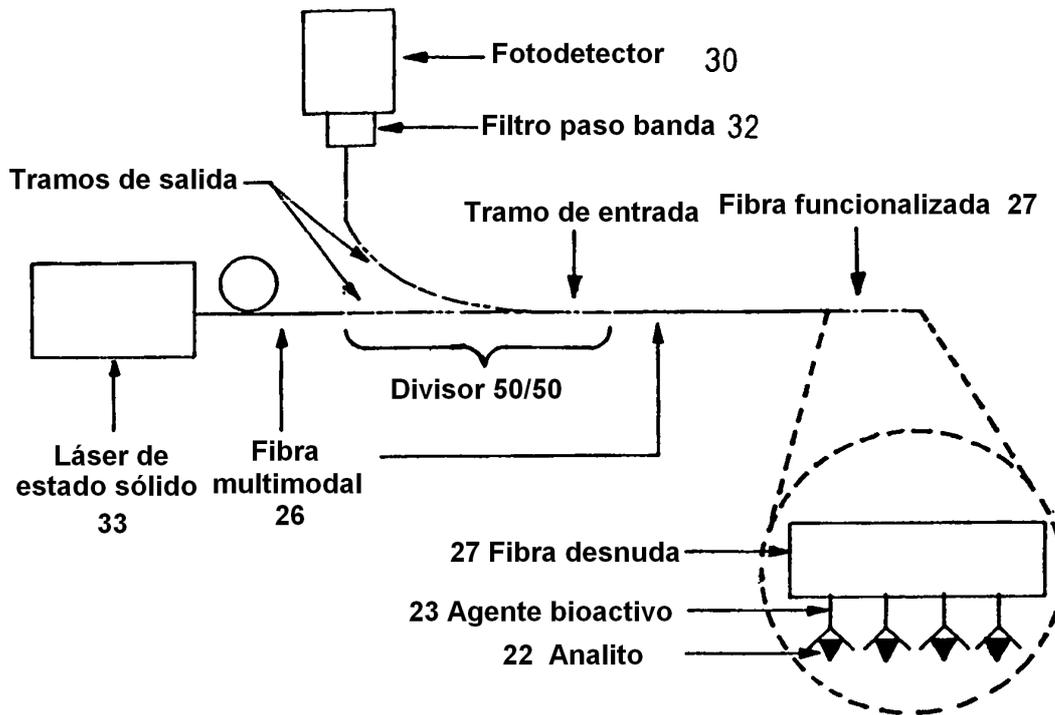


Diagrama esquemático de sensor TIRF de fibra óptica. Se dirige la luz láser incidente a través del tramo de salida de un divisor de fibras ópticas 50:50 sobre la fibra funcionalizada. La fluorescencia emitida se acopla de vuelta en la fibra y se propaga hacia el detector con poca interferencia de la luz láser.

Fig. 12

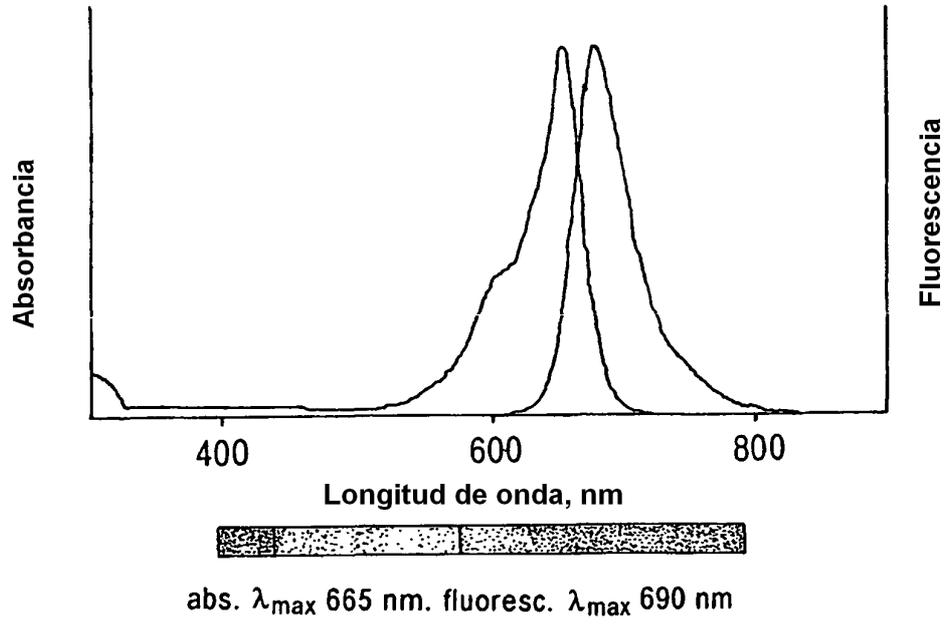


Fig. 13

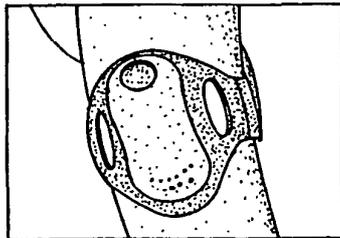


Fig. 14

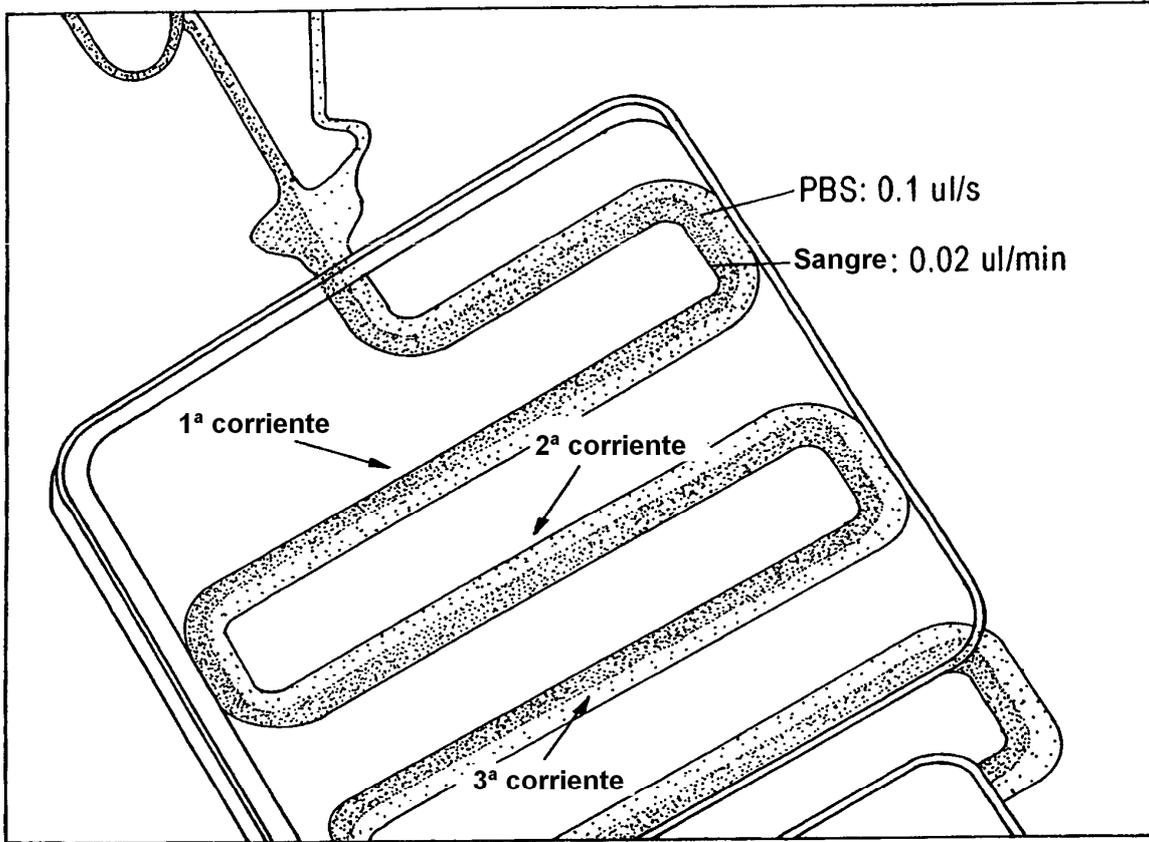
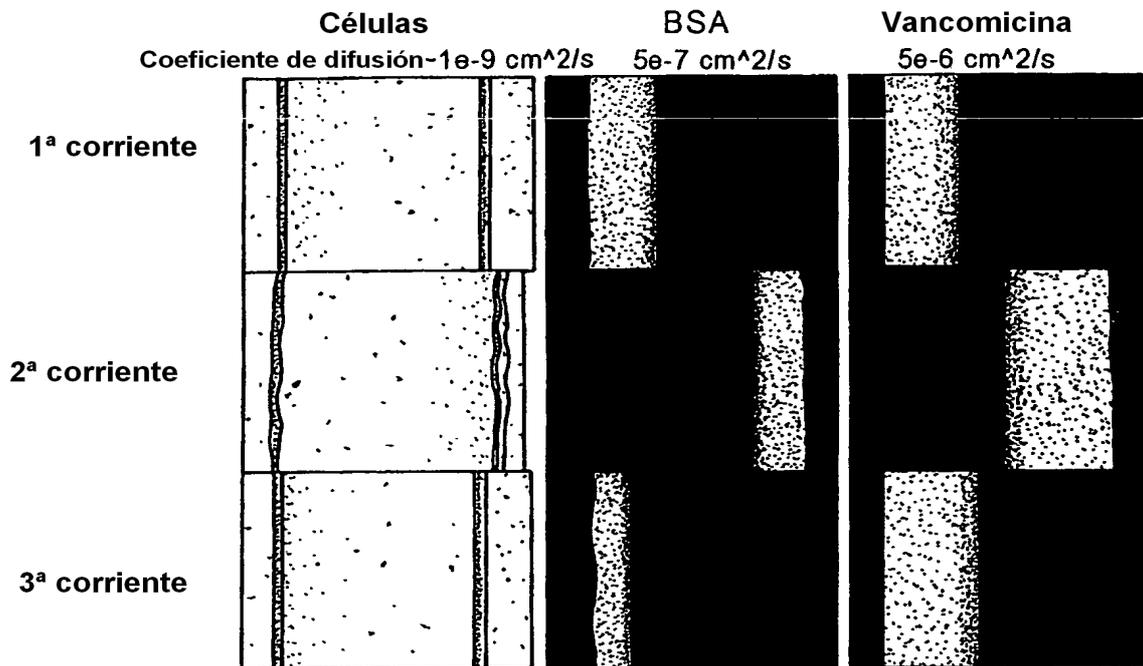


Fig. 15



Datos de separación difusional

Fig. 16

