

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 429 893**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

G01N 31/22 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2004 E 04023724 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2013 EP 1522343**

54 Título: **Elemento de ensayo analítico que comprende una malla hidrófila para formar un canal capilar, su empleo y método para determinar un analito en un líquido**

30 Prioridad:

07.10.2003 DE 10346417

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

18.11.2013

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

BRAUNER, MICHAEL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 429 893 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

Elemento de ensayo analítico que comprende una malla hidrófila para formar un canal capilar, su empleo y método para determinar un analito en un líquido

La presente solicitud se refiere a un elemento de ensayo analítico para determinar al menos un analito en un líquido, al uso de un elemento de ensayo analítico según la presente invención para determinar un analito en un líquido, así como a un método para determinar un analito en un líquido con la ayuda de un elemento de ensayo analítico según la presente invención.

Estado técnico

Para la determinación analítica cualitativa o cuantitativa de componentes de líquidos, en particular de líquidos corporales como la sangre, se utilizan con frecuencia los llamados ensayos sobre soporte. En ellos hay reactivos, en concreto reactivos de detección específica, y reactivos auxiliares embebidos o fijados en las respectivas capas de un soporte sólido. Estas capas se denominan elementos de detección. Para determinar el correspondiente analito se pone en contacto la muestra líquida con estos elementos de detección. En presencia de un analito investigado, la reacción de la muestra líquida con los reactivos suele dar una señal óptica o electroquímicamente detectable, sobre todo un cambio de color que puede valorarse visualmente o con la ayuda de un aparato, en la mayoría de los casos por fotometría de reflexión. Otros métodos de detección están basados, por ejemplo, en técnicas electroquímicas y registran variaciones de carga, de potencial o de corriente.

Los elementos o soportes de ensayo están configurados a menudo como tiras de ensayo que constan básicamente de una capa soporte alargada de material sintético y elementos de detección aplicados sobre ella como áreas de ensayo. No obstante también se conocen soportes de ensayo en forma de plaquitas cuadradas o rectangulares.

Los elementos de ensayo para diagnosis clínica suelen estar formados con las zonas de colocación de muestra y de detección superpuestas en un eje vertical. Esta configuración entraña una serie de problemas. Cuando las tiras de ensayo cargadas con la muestra deben introducirse en un aparato de medición, por ejemplo en un fotómetro de reflexión, cabe el riesgo de que material de la muestra potencialmente infeccioso entre en contacto con partes del aparato y las pueda contaminar. Por eso es deseable que haya una separación espacial entre la zona de colocación de muestra y el elemento de detección.

A menudo la dosificación del volumen en los elementos de ensayo es difícil de realizar, sobre todo en aquellos casos en que las tiras de ensayo son utilizadas por personas no formadas, por ejemplo para el autocontrol del contenido de azúcar en sangre o de la coagulación. El debido transporte de la muestra líquida, desde la zona de colocación de muestra hasta el elemento de detección, suele ser un proceso crítico por lo que respecta a la dosificación del líquido analizado y en consecuencia a la reproducibilidad de la medición. Estos elementos de ensayo requieren dispositivos adicionales como canales, membranas, papeles o telas no tejidas para el transporte y la distribución de las muestras líquidas. Esta configuración requiere a menudo volúmenes de muestra relativamente grandes para poder obtener mediciones fiables. Por ejemplo, en caso de utilizar sangre como muestra líquida, la toma de muestra resulta más dolorosa para el paciente cuanto mayor es la cantidad de sangre que debe extraerse. Por tanto, en general se aspira a disponer de tiras de ensayo que necesiten la menor cantidad posible de muestra. Además el transporte de líquido tiene que ser lo más rápido posible, para reducir los tiempos de medición al mínimo.

Cuando se usan telas no tejidas, papeles o membranas para el transporte del líquido, las propiedades del respectivo material influyen decisivamente en la velocidad de transporte, de tal manera, que no se puede garantizar un nivel uniforme de las velocidades de transporte. Además dichos materiales tienen el gran inconveniente de que poseen un volumen propio no despreciable y, por su estructura microscópica, una capilaridad intrínseca.

Así, concretamente, las telas no tejidas y los papeles, debido a su estructura fibrosa, poseen un gran volumen de capilaridad que, aunque permite la difusión de líquido dentro del material y el transporte desde la zona de colocación de muestra hacia el elemento de detección por fuerzas capilares, también retiene una parte considerable del líquido objeto de análisis. Por tanto una buena parte de la muestra líquida depositada inicialmente en estos elementos de ensayo no queda disponible para la propia detección analítica y hay que usar mayores volúmenes de muestra, lo cual implica nuevamente los inconvenientes arriba mencionados para el paciente. Otro problema es que, en el caso de una serie de elementos de detección sucesivos sobre un elemento de ensayo común, el inicio de las reacciones que tienen lugar en dichos elementos no es uniforme ni simultáneo. Como el transporte de líquido a través de las telas no tejidas, papeles o membranas con actividad capilar es bastante lento, la reacción de detección empieza en el elemento detector adyacente a la zona de colocación de la muestra mucho antes que en el elemento situado en último lugar según la dirección de flujo. Análogamente sucede en cada elemento de detección. La humectación por el líquido y por lo tanto el comienzo de la reacción de detección tiene lugar primero en el lado contiguo a la zona de colocación de la muestra, de modo que en un mismo elemento detector también puede haber retrasos al inicio de la reacción de detección. Así la reacción no puede tener un desarrollo uniforme y reproducible y las determinaciones analíticas pueden resultar erróneas.

Además, en el caso de que haya elementos de detección sucesivos puede haber un arrastre de reactivos de un elemento detector al próximo según el sentido del flujo y falsear por tanto los resultados de la medición.

5 Si se utilizan estructuras de canalización para el transporte de las muestras líquidas desde la zona de colocación de muestra hasta el elemento de detección, el canal deben tener unas dimensiones mínimas y máximas de anchura, altura y longitud, así como una textura superficial apta para el transporte capilar del líquido. En este caso también hay restricciones en cuanto al volumen que debe transportarse y a la velocidad de transporte.

10 Otros mecanismos y dispositivos de transporte de líquido requieren a menudo el uso de fuerzas externas activas, como por ejemplo bombas, y por tanto en estos casos se necesitan aparatos adicionales que son caros.

15 Los canales empleados hasta la fecha en los elementos de ensayo tienen frecuentemente la desventaja de poseer un volumen interno considerable que retiene por capilaridad una parte del volumen del líquido analizado. Por ello en este tipo de elementos de ensayo una parte de la muestra líquida depositada inicialmente no está disponible para la propia detección analítica. En consecuencia hay que usar mayores volúmenes de muestra, con los consiguientes inconvenientes para el paciente arriba mencionados.

20 Hasta ahora la mayoría de los canales empleados en los elementos de ensayo son de materiales inertes permeables a los líquidos. Si bien en estos canales puede haber un rápido transporte de líquido por capilaridad hacia la zona del elemento detector, hacen falta otras estructuras y dispositivos para transportar el líquido desde los capilares hasta el elemento detector.

25 Una posibilidad consiste en integrar el elemento detector o partes del mismo en el interior del canal capilar y en contacto directo con él, de tal manera que el propio elemento de detección sea un componente del canal capilar. No obstante esto tiene el inconveniente de que en las zonas de paso de la pared del canal capilar hacia el elemento detector puede haber transiciones bruscas de las características superficiales que obstaculicen o interrumpan del todo el transporte de líquido. Así no se puede garantizar que el líquido analizado afluya de manera uniforme y rápida al elemento detector. En vez de ello la humectación del elemento detector y por tanto la reacción de detección tiene lugar en su tramo más cercano al canal capilar o a la zona de colocación de la muestra antes que sus tramos más alejados, lo cual impide alcanzar un desarrollo controlado y uniforme de la reacción de detección y por tanto una determinación reproducible del analito.

30 Los elementos de ensayo en que el transporte desde el canal capilar hacia el elemento detector tiene lugar mediante materiales de acción capilar como telas no tejidas o similares, especialmente las llamadas napas o telas difusoras, tienen problemas análogos y además los inconvenientes ya citadas de los materiales de esta clase para transportar líquidos.

35 La patente EP-A-0 287 883 describe un elemento de ensayo que sirve para la dosificación volumétrica de un espacio capilar intermedio entre la capa de detección y un soporte inerte. Para llenar el espacio capilar, el elemento de ensayo se sumerge en la muestra analizada, lo cual requiere grandes volúmenes de muestra; por ello esta forma de dosificación volumétrica es preferible cuando hay cantidades de muestra en exceso, por ejemplo de orina. En este caso el espacio capilar sirve exclusivamente para la dosificación volumétrica. En este dispositivo no se ha previsto una separación espacial entre la zona de colocación de muestra y el sitio de detección, ni un transporte de líquido promovido por la brecha capilar hacia el sitio de detección. Además, en el dispositivo descrito, el propio elemento detector constituye una parte del canal capilar.

40 Para determinar un analito en un líquido, la patente DE 197 53 847 describe un elemento de ensayo que posee un canal capaz de transportar líquidos por capilaridad y un elemento de detección, sobre un soporte inerte. El canal habilitado para el transporte capilar de líquidos se caracteriza según la invención porque está formado, al menos parcialmente, por el soporte y el elemento detector, y porque se extiende en la dirección del transporte capilar desde la abertura de colocación de la muestra hasta, al menos, el borde del elemento detector más próximo a la abertura de desaireación. El inconveniente principal de esta forma de ejecución es que el elemento de detección forma parte directamente del canal habilitado para el transporte capilar de líquidos. En este caso las diferentes características superficiales de cada componente del canal pueden ocasionar problemas arriba citados como la alteración y el corte del transporte capilar o la humectación irregular del elemento detector. Además el líquido objeto de análisis entra directamente en contacto con los reactivos del elemento detector en el mismo canal; por lo tanto en esta forma de ejecución no hay ninguna separación espacial entre el espacio de transporte y la zona de detección.

45 50 55 60 65 A través de la patente DE-A 31 51 291 se conoce un aparato analizador de fluidos biológicos que posee un soporte con un canal medidor autollenable y un laminado compuesto por una capa filtrante y una capa de material reactivo. En este soporte de ensayo la muestra líquida es transportada por fuerzas capilares hacia el canal medidor y de ahí penetra en el laminado superpuesto, en el cual tiene lugar una reacción de detección del analito diana después de calentar el aparato analítico. En este aparato la capa filtrante está constituida por una membrana microporosa, cuyos poros son de tamaño inferior a 1 μm , que forma la cobertura superior del canal capilar. Esta membrana filtrante tiene según la invención la misión de aislar la capa de material reactivo de componentes perturbadores, como por ejemplo estructuras celulares. Esta membrana filtrante cumple sobre todo la tarea de acondicionar la muestra líquida y variar

su composición antes de su análisis en la capa de material reactivo y por tanto interviene en la detección del analito. El inconveniente es que con orificios de poro tan pequeños, inferiores a 1 μm , el líquido solo puede penetrar muy lentamente en la capa de material reactivo, lo cual alarga los tiempos de reacción. En concreto, cuando se utilizan soluciones que llevan grandes concentraciones de, por ejemplo, sangre, partículas o células la membrana filtrante se puede obstruir fácilmente debido al bajo tamaño de poro y por lo tanto alterar o interrumpir el transporte del líquido analizado hacia la zona de detección. Entonces no siempre se puede garantizar la viabilidad y reproducibilidad de la determinación analítica. Tampoco es favorable que para determinar el analito haya que calentar el aparato analítico con la muestra contenida en él. De este modo el empleo del aparato analítico queda limitado esencialmente a los laboratorios.

La patente DE 196 29 657 describe un soporte de ensayo diagnóstico constituido por una capa soporte que lleva por encima una o varias capas detectoras y una malla de mayor tamaño que cubre las capas detectoras y está sujeta a la capa soporte. Para determinar los analitos, el líquido analizado se deposita directamente sobre la malla y fluye a través de ella hacia las capas detectoras. En este caso la zona de colocación de la muestra y las capas detectoras están superpuestas en un eje vertical, lo cual provoca los problemas antes citados de estas estructuras apiladas. No tiene lugar un transporte específico del líquido analizado - por ejemplo mediante canales capilares - desde la zona de colocación de muestra hasta una capa detectora alejada de ella en posición horizontal, antes de la determinación del analito. Aquí la malla tiene la misión de apartar el líquido sobrante de la capa detectora a través de la parte de malla que sobresale por encima de la capa detectora. Preferiblemente el espesor de la malla debe ser el adecuado para que la cobertura que lleva por encima y la capa soporte que tiene por debajo estén distanciadas entre sí de tal modo que el líquido remanente sobre la capa detectora saturada y en la malla repleta sea aspirado por capilaridad de la zona situada bajo la cobertura y transportado fuera de la zona de colocación de la muestra. En estas zonas el líquido es transportado lateralmente por capilaridad dentro de la misma malla o entre ella y la cobertura o la capa soporte, pero no por capilaridad en aquellas donde la malla forma una pared de una brecha capilar más grande. Como en el dispositivo descrito la malla debe cumplir otros requisitos, en comparación con la malla de la presente invención aquélla posee distintos parámetros geométricos y propiedades materiales.

La patente US 4,323,536 describe un elemento de ensayo analítico en el cual la muestra líquida puede afluir por un canal capilar a varios elementos de ensayo. Estos elementos de ensayo constan de materiales capilares activos que aspiran la muestra líquida y en los cuales tienen lugar los procesos de análisis y detección. Estos elementos de ensayo con actividad capilar están en contacto directo con el canal de muestra o se pueden intercalar más capas, por ejemplo capas filtrantes.

La patente US 6,592,815 o DE 197 538 49 A1 describe un elemento de ensayo analítico que contiene un material de tela no tejida capilarmente activo, capaz de aspirar la muestra líquida de una brecha capilar del elemento de ensayo. La muestra líquida se reconduce en todas direcciones dentro del material de tela no tejida y se distribuye por él. A continuación el material de tela no tejida impregnado con la muestra líquida cede una parte de ésta a los elementos de ensayo adyacentes, donde se desarrollan los verdaderos procesos de análisis y detección.

Objetivo de la presente invención

La presente invención tiene por objeto superar las desventajas del estado técnico. En concreto debe proporcionar un elemento de ensayo de fácil manejo y llenado volumétrico autónomo, que permita una separación espacial entre las zonas de detección y de colocación de muestra, usando unos volúmenes mínimos de muestra. Además el transporte de líquido desde la zona de colocación de muestra hasta la zona de detección debe ser lo más rápido y completo posible, para no limitar el tiempo de análisis de una muestra. Particularmente, en los elementos de ensayo que poseen varios elementos detectores debe garantizarse dentro de lo posible que la muestra líquida alcance al mismo tiempo cada elemento detector, sin problemas de arrastre, a fin de que las reacciones analíticas puedan empezar lo más simultáneamente posible. Además el elemento de ensayo debe tener un diseño sencillo para que su producción resulte económica y no sea técnicamente complicada.

Esto se consigue mediante el objeto de la presente invención, tal como se especifica en las reivindicaciones y en la descripción.

Solución según la presente invención

La presente invención tiene por objeto un elemento de ensayo analítico para determinar, al menos, un analito en un líquido, tal como se define en la reivindicación 1. Otros objetos de la presente invención son el uso de este tipo de elemento de ensayo analítico para determinar un analito en un líquido, así como métodos de determinación de un analito en un líquido mediante tal elemento de ensayo analítico.

Según la presente invención el canal habilitado para el transporte capilar de líquido está limitado, al menos en parte, por una malla hidrófila, tal como se define en la reivindicación 1. Según la presente invención hay uno o varios elementos detectores en contacto directo con el lado de la malla opuesto a la brecha capilar. Por consiguiente la malla se encuentra entre la brecha capilar y el elemento detector, al menos en zonas parciales. La malla constituye una superficie límite de la brecha capilar y posibilita el transporte de la muestra líquida desde la zona de colocación

de muestra, atravesando la brecha capilar, hasta las zonas de dicha brecha, separadas por la malla, que están por debajo del elemento detector. Las características superficiales y las magnitudes geométricas de la malla determinan decisivamente el funcionamiento del elemento de ensayo de la presente invención. Así, por ejemplo, en una forma de ejecución preferida el transporte de la muestra líquida desde la zona de colocación de muestra, atravesando la brecha capilar, hasta la abertura de desaireación situada en el lado opuesto tiene lugar en pocos segundos, sin que antes salga líquido de la brecha capilar a través de la malla. En esta forma de ejecución, por ejemplo, una gota de sangre de 30 μl de volumen puede llenar en unos 3 - 5 segundos toda la brecha capilar, que tiene una anchura de unos 2 mm, una altura de unos 200 μm y una longitud de unos 25 mm, lo cual permite que la muestra líquida afluya muy rápida y simultáneamente a los elementos detectores.

Según la presente invención, en condiciones normales, como a presión atmosférica, el líquido solo puede atravesar la malla e infiltrarse en el correspondiente elemento detector por aquellos sitios en que hay uno o más elementos detectores situados al otro lado de la malla. Para ello es necesario que exista un contacto directo de los elementos detectores con el lado de la malla opuesto a la brecha capilar.

Sorprendentemente se ha demostrado que, cuando las características superficiales y las magnitudes geométricas de la malla, de la brecha capilar y la disposición mutua de los elementos individuales son adecuadas, tiene lugar un llenado muy rápido de la brecha capilar y a continuación una humectación ampliamente uniforme y simultánea de los elementos detectores. Con ello aumenta la precisión y la reproducibilidad de la determinación analítica.

Las dimensiones geométricas y el volumen del canal habilitado para el transporte o de la brecha capilar se pueden adaptar a los volúmenes de muestra analizada. En el caso preferido de que el canal tenga una sección básicamente rectangular hay una dimensión, por ejemplo la altura del canal, que viene predeterminada por los límites físicos de la actividad capilar. Entonces el volumen del canal capilar se puede regular eligiendo adecuadamente las otras dos dimensiones, por ejemplo longitud y anchura. Para líquidos acuosos la altura de los capilares es, por ejemplo, del orden de 10 hasta 500 μm , preferiblemente entre 20 y 300 μm , con especial preferencia entre 50 y 200 μm . En función del volumen deseado, la anchura puede ser de varios mm, preferiblemente de 1 hasta 5 mm, sobre todo de 1 hasta 3 mm, y la longitud de algunos cm, preferiblemente de 0,5 hasta 5 cm, sobre todo de 1 hasta 3 cm. De todos modos las propiedades capilares de un canal no dependen solo de las dimensiones geométricas, sino también de otros parámetros como la textura superficial y la hidrofobia de las paredes del canal o las propiedades reológicas de la muestra líquida. Por tanto dichas dimensiones no deben verse como restrictivas, sino más bien como ejemplos. Las dimensiones y propiedades superficiales óptimas de la brecha capilar pueden ser fijadas por un especialista de manera que la textura del canal pueda adaptarse a las exigencias correspondientes.

La brecha capilar consta en parte de una sustancia soporte moldeada de manera que pueda formar un canal capilar, sobre todo en aquellos sitios donde está cubierta por la malla. A tal fin, según una forma de ejecución preferida, se practica un hueco adecuado en la sustancia soporte, p.ej. por estampación, tratamiento corrosivo o fresado. En otra forma de ejecución la geometría del canal capilar no está prefijada por la configuración de la sustancia soporte, sino significativamente por capas intermedias adicionales. En tal caso se usa preferiblemente uno o más distanciadores dispuestos sobre un soporte de manera que los lados dirigidos hacia el futuro canal tengan entre sí una separación correspondiente a la futura brecha capilar. La altura de la futura brecha capilar viene determinada por la altura del distanciador. La longitud de la futura brecha capilar puede estar predeterminada por la longitud del distanciador.

La capa intermedia puede estar elaborada ventajosamente a partir de una cinta adherente por ambas caras que, además de determinar la geometría del canal capilar, permite la unión de los demás componentes que forman la zona capilar activa, es decir soporte y malla.

En una forma de ejecución preferida, el perfil del futuro canal capilar se establece mediante la configuración de la capa intermedia o del distanciador. Así, por ejemplo, troquelando o recortando el material distanciador se pueden configurar ciertas áreas que sirvan especialmente de zonas de colocación de muestra o aberturas de descarga de aire.

En otra forma de ejecución, como capa intermedia y distanciador se colocan dos cintas adherentes de doble cara sobre un soporte, con una distancia entre sí que corresponde a la anchura del canal capilar. Poniendo la malla sobre las cintas adherentes de doble cara se puede formar un canal capilar.

Para las paredes de la brecha capilar, en particular para el material soporte y las posibles capas intermedias, se usan preferiblemente materiales inertes que no absorban los líquidos analizados. En concreto son materiales no absorbentes, con especial preferencia láminas sintéticas de poliestireno, policloruro de vinilo, poliéster, policarbonato o poliamida, por ejemplo. Otros adecuados como soporte son las láminas metálicas, los materiales cerámicos o el vidrio. No obstante también pueden impregnarse materiales absorbentes como, por ejemplo, madera, papel o cartón, con productos hidrófobos.

La brecha capilar está delimitada en sus extremos por una abertura de colocación de muestra y una abertura de desaireación. La abertura de colocación de muestra está configurada preferiblemente de modo que se asegure la entrada de la muestra líquida en el canal capilar. Esto se puede lograr, por ejemplo, poniendo directamente la gota

de muestra en contacto con una de las áreas que forma una de las superficies internas de los capilares, sobre todo en contacto con el extremo correspondiente de la brecha capilar. No obstante la abertura de desaireación también puede estar formada por una cavidad en al menos una de las paredes que configuran la brecha capilar. Eligiendo debidamente la forma geométrica y las dimensiones de la cavidad se consigue que la gota de muestra entre con gran probabilidad en contacto con la zona capilar activa y sea absorbida prontamente dentro de los capilares, con independencia del lugar exacto de colocación de la muestra. Por ejemplo, el tamaño de las superficies al descubierto debe elegirse de manera que una gota de líquido aplicada sobre ellas entre en contacto, al menos en un punto, con la zona capilar activa. Por ejemplo, una dimensión de la cavidad, p.ej. su anchura, debe elegirse de manera que el diámetro de la gota de líquido sea ligeramente mayor que la dimensión elegida de la cavidad. Se ha demostrado, por ejemplo, que para una gota de 3 μl resulta adecuada una cavidad de 1 mm de anchura; para mayores cantidades de líquido cavidades respectivamente superiores. La absorción de la gota de muestra en el canal capilar se consigue con especial preferencia de modo que la superficie descubierta por la cavidad sea hidrófila y, siguiendo al menos la dirección del canal de transporte capilar, llegue directamente a la zona capilar activa. Una posibilidad preferida de generar esta abertura especialmente configurada de colocación de muestra o de desaireación es el uso de capas intermedias troqueladas o recortadas de forma característica, por ejemplo cintas adherentes de doble cara, tal como se ha descrito anteriormente. Esta forma de ejecución se encuentra por ejemplo en la patente WO 03/095092. Otras aberturas preferidas de colocación de muestra se pueden conformar de modo que entren en contacto directo con una gota de muestra líquida y la transporten por capilaridad hacia los elementos detectores. Esta forma de ejecución está descrita por ejemplo en la patente DE 197 53 850 A1.

La tendencia de un capilar a absorber un líquido depende de la capacidad del mismo para humectar la superficie del canal. Para las muestras acuosas significa que el capilar debería ser de un material cuya tensión superficial fuera parecida o superior a la del agua, que es de 72 mN/m. En este contexto son hidrófilas las superficies que atraen agua. Las muestras acuosas, entre ellas las de sangre, se difunden bien sobre dichas superficies, las cuales se caracterizan entre otras cosas porque en la interfase forman un ángulo agudo de humectación o contacto con una gota de agua. En cambio, sobre las superficies hidrófobas se forma un ángulo de contacto obtuso entre la gota de agua y la superficie.

Materiales suficientemente hidrófilos para formar un capilar que absorba con rapidez las muestras acuosas son, por ejemplo, el vidrio, los metales y los materiales cerámicos. Sin embargo dichos materiales son limitadamente aptos para usar como soportes de ensayo porque tienen algunas desventajas, por ejemplo peligro de rotura en el caso del vidrio o de la cerámica o alteración con el tiempo de las propiedades superficiales en numerosos metales. Por tanto, para elaborar elementos de ensayo se utilizan normalmente láminas o moldes de materiales sintéticos.

En general los materiales sintéticos apenas superan una tensión superficial de 45 mN/m. Aun con los plásticos más hidrófilos comunes, como por ejemplo polimetacrilato de metilo o poliamida, solo pueden formarse, si ello es posible, capilares de absorción muy lenta. Los capilares de plásticos hidrófobos como por ejemplo poliestireno, polipropileno o polietileno no absorben prácticamente ninguna muestra acuosa. De ahí se desprende la necesidad de hidrofilar plásticos para su uso como material constructivo en elementos de ensayo con canales de acción capilar.

En una forma de ejecución preferida del elemento de ensayo analítico de la presente invención hay al menos una, mejor y sobre todo dos áreas hidrofilizadas opuestas, que forman la superficie interna del canal habilitado para el transporte capilar de líquido. La malla hidrófila forma concretamente una superficie interna hidrófila de la brecha capilar.

La hidrofiliación de más de una superficie se puede efectuar siguiendo el mismo o distintos métodos para cada una de ellas.

La hidrofiliación es necesaria, sobre todo, cuando los materiales que forman el canal capilar activo, en concreto el soporte, son propiamente hidrófobos o muy poco hidrófilos, por ejemplo porque están constituidos por plásticos no polares. Los plásticos apolares como por ejemplo poliestireno, polietileno, polietilentereftalato o policloruro de vinilo son ventajosos como materiales soporte, porque no absorben los líquidos analizados y por consiguiente el volumen de muestra se puede usar efectivamente para la determinación analítica. Con la hidrofiliación de la superficie del canal capilar se logra que una muestra líquida acuosa penetre prontamente en el canal capilar y de ahí se transporte rápidamente al elemento detector.

La hidrofiliación de la superficie del canal capilar se consigue idealmente empleando en su elaboración un material hidrófilo que no absorba la muestra líquida o solo de modo insignificante. De no ser posible, una superficie hidrófoba o muy poco hidrófila se puede hidrofilar mediante un recubrimiento apropiado con una capa hidrófila estable e inerte frente al material de la muestra, por ejemplo mediante enlace covalente de polímeros hidrófilos fotorreactivos sobre una superficie de plástico, mediante la aplicación de capas que contienen agentes humectantes o mediante el recubrimiento de superficies con nanocompuestos por tecnología sol-gel. Los soportes hidrófobos también pueden hidrofiliarse aplicando sobre ellos superficies totalmente hidrófilas, por ejemplo en forma de láminas. Asimismo se puede conseguir una mayor hidrofilia por tratamiento térmico, físico o químico de la superficie, por ejemplo tratándola con humectantes como diocilsulfosuccinato sódico o ácido oleilsarcosínico.

Para la malla del soporte de ensayo diagnóstico de la presente invención se utilizan tejidos monofilamento hidrófilos. En tal caso el propio material del tejido puede hidrófilo o bien se puede hidrofilar, por ejemplo, tratándolo con un agente humectante.

5 La anchura de la malla juega un papel decisivo para el funcionamiento óptimo del elemento de ensayo según la presente invención, tal como está definido en la reivindicación 1.

10 Según la presente invención se encontró que a tal fin son especialmente adecuadas las mallas cuya anchura está comprendida entre 10 y 500 μm , preferiblemente entre 20 y 300 μm , con especial preferencia entre 50 y 150 μm , y cuyo espesor está comprendido entre 10 y 500 μm , preferiblemente entre 20 y 300 μm , con especial preferencia entre 50 y 150 μm . La malla está formada por un tejido hidrófilo. Sorprendentemente se ha demostrado que para ello también se puede usar tejido no hidrófilo, pero económico y fácil de mecanizar cuando tiene lugar una hidrofiliación de la superficie del tejido. Como material de malla especialmente preferido se emplea polietilentereftalato y la malla de este material se trata a continuación con un agente humectante, como p.ej. dioctilsulfosuccinato sódico o ácido oleilsarcosínico, y así se hidrofila.

15 La malla tiene preferiblemente un diámetro de fibra o de hilo comprendido entre 10 y 300 μm , preferiblemente entre 30 y 150 μm , con especial preferencia entre 50 y 100 μm .

20 En el sentido de la presente invención el término malla está limitado a tejidos monofilamento.

25 Para facilitar la función del elemento de ensayo según la presente invención no es necesario que la malla forme una superficie lateral completa de la brecha capilar. En formas de ejecución preferidas la malla puede formar solo una parte de las paredes de la brecha capilar. No obstante, en estos casos la malla debe estar al menos parcialmente en contacto directo con el espacio interior de la brecha capilar y con el elemento detector, para posibilitar un transporte de líquido desde el espacio interior de la brecha capilar hasta el elemento detector. Estas formas de ejecución son especialmente preferidas, aunque la malla sea cara. Entonces, aquellas formas de ejecución en que la malla solo es parte de la estructura de la brecha capilar en las zonas del elemento detector pueden contribuir a reducir claramente los costes de fabricación.

30 El uso de un canal capilar activo con una malla como contorno según la presente invención tiene sorprendentemente las ventajas siguientes:

- 35 – Como el canal habilitado para el transporte capilar de líquido se llena en poco tiempo con el líquido analizado y éste puede llegar de modo ampliamente uniforme y simultáneo, a través de la malla, a los elementos detectores adyacentes, se garantiza una humectación homogénea del elemento detector, evitando así el falseamiento de la medición.
- Se puede conseguir que la reacción de detección se desarrolle de forma ampliamente uniforme y simultánea.
- 40 – Además, con las dimensiones geométricas del canal capilar se puede determinar de modo exacto y reproducible el volumen del líquido contenido. Por tanto la brecha capilar de la presente invención también sirve para dosificar el volumen de muestra líquida. Así se incrementa la precisión y reproducibilidad de la medición.

45 En los elementos de ensayo donde el desarrollo o el resultado de una reacción analítica se detecta en una zona bien definida de los mismos, por ejemplo mediante detección óptica en un aparato especial, y donde se procura separar entre sí las zonas de colocación de muestra y de detección, por ejemplo por motivos de higiene del aparto, el uso de un canal capilar activo para el transporte del líquido tiene además la ventaja de que la muestra líquida pasa con gran rapidez de la abertura de colocación de la muestra en el elemento de ensayo a la zona de análisis en el elemento de detección. De esta forma el análisis de la muestra no está limitado por el tiempo. Además esta disposición resulta más cómoda para el usuario.

50 El elemento de ensayo tiene otras ventajas además de las ya citadas. Con la separación espacial entre la zona de colocación de la muestra y la señal de detección, combinada con la dosificación del volumen de muestra, se logra una manipulación higiénica del material de muestra. En el caso concreto de detección óptica, por ejemplo mediante un fotómetro de reflexión, queda ampliamente excluida una contaminación del aparato, porque la muestra se puede depositar por ejemplo sobre un elemento de ensayo que sobresalga del aparato, el canal capilar absorbe la cantidad de muestra necesaria para la determinación del analito y la dosifica automáticamente, sin más pasos, a la zona de detección del elemento de ensayo situada dentro del aparato.

60 Un elemento de ensayo contiene los reactivos necesarios para la reacción de detección del analito diana contenido en la muestra, así como, dado el caso, sustancias auxiliares. El elemento de ensayo también puede contener solo una parte de los reactivos o sustancias auxiliares. El especialista familiarizado con la técnica de los elementos de ensayo analíticos o de los soportes de ensayo conoce muy bien estos reactivos y sustancias auxiliares. Para los analitos que tienen que detectarse enzimáticamente, el elemento de ensayo puede contener, por ejemplo, enzimas, substratos enzimáticos, indicadores, sales tampón, cargas inertes y similares. El elemento detector puede constar de una o varias capas y llevar además una cobertura, preferiblemente sobre su lado que no se pone en contacto con la muestra. Para el caso, especialmente preferido, de que la reacción de detección produzca una variación de color

observable, incluyendo tanto el cambio de un tono como la aparición o desaparición de color, hay que garantizar con medidas adecuadas que el soporte permita una observación visual u óptica de la reacción de detección. Para ello el material soporte y la malla o una posible cobertura del elemento detector pueden ser en sí transparentes o presentar una cavidad transparente sobre el sitio de detección. Si el elemento detector no está envuelto por una cobertura, la variación de color del mismo también se puede determinar de modo directo, preferiblemente por fotometría reflexiva.

Además de las reacciones que producen cambios de color, el especialista conoce otros principios de detección que se pueden llevar a cabo con el elemento de ensayo descrito, por ejemplo sensores electroquímicos o métodos de detección químicos, bioquímicos, biológico-moleculares, inmunológicos, físicos, fluorimétricos o espectroscópicos.

Para el elemento de detección hay que emplear materiales capaces de absorber el líquido analizado con los analitos que contiene. Se trata concretamente de materiales absorbentes, como por ejemplo telas no tejidas, tejidos, mallas, papeles o materiales sintéticos porosos. Los materiales utilizables deben ser capaces de llevar reactivos que hacen posible la detección del analito objeto de la determinación. Los materiales preferidos para el elemento de detección son papeles o materiales sintéticos porosos como membranas. Se prefieren especialmente las membranas porosas de poliamida, poli(difluoruro de vinilideno), poliétersulfona o polisulfona. Los reactivos empleados para determinar el analito detectable pueden incorporarse a dichos materiales por impregnación, preferiblemente.

Para el elemento detector pueden emplearse, con especial preferencia, las llamadas películas abiertas, como por ejemplo las descritas en la patente EP-B-0 016 387. Con tal fin, a una dispersión acuosa de materiales sintéticos orgánicos, filmógenos, se le añaden partículas sólidas finas, insolubles, de tipo orgánico o inorgánico y además los reactivos necesarios para la reacción de detección. Son filmógenos idóneos, preferiblemente, materiales sintéticos orgánicos como poli(ésteres vinílicos), poli(acetato de vinilo), poli(ésteres acrílicos), poli(ésteres metacrílicos), poli-acrilamidas, poliamidas, poliestireno, copolímeros, por ejemplo de butadieno y estireno o de éster maleico y acetato de vinilo, u otros polímeros orgánicos filmógenos de tipo natural y sintético, así como mezclas de ellos, en forma de dispersiones acuosas. Aunque los reactivos necesarios para la reacción de detección se incorporan usualmente a la dispersión empleada para preparar las películas abiertas, también puede ser conveniente impregnar con ellos el film ya formado. También cabe la posibilidad de impregnar previamente las cargas con los reactivos. El especialista ya sabe qué reactivos se pueden usar para detectar un determinado analito.

Además el elemento detector puede disponer de componentes que permiten excluir componentes perturbadores de la reacción de detección y por lo tanto hacen de filtro, por ejemplo de partículas contenidas en la muestra como las células sanguíneas. Por ejemplo, en el análisis de muestras de sangre la hemoglobina, el pigmento rojo que llevan los eritrocitos, entorpece los procesos de detección visual u óptica. Estos componentes perturbadores se separan adecuadamente de la muestra – de sangre entera, por ejemplo - antes de la reacción de detección. Esto se puede hacer antes de depositar la muestra sobre el elemento de ensayo, por ejemplo centrifugando la sangre entera y recuperando a continuación el suero o el plasma. Es más cómodo, y más sencillo para el usuario, que el propio elemento de ensayo efectúe esta separación mediante una estructura adecuada. El especialista conoce medios de la tecnología de tiras de ensayo que garantizan una exclusión fiable de eritrocitos y otros componentes sanguíneos perturbadores. Por ejemplo, para separar los corpúsculos sanguíneos se pueden usar membranas semipermeables o telas de fibra de vidrio como las que se conocen, por ejemplo, a través de la patente EP-B-0 045 476.

El contacto del elemento detector con la malla puede prepararse de modo conocido para el especialista. Resulta especialmente ventajoso poner primero los elementos detectores sobre la malla y luego pegar al menos dos bordes laterales del elemento detector, preferiblemente opuestos, con la malla. Se prefiere especialmente la fijación, como mínimo, en los lados que son perpendiculares al recorrido de la brecha capilar. De este modo se puede conseguir una fijación y un contacto directo del elemento detector con la malla, sin contaminar la superficie de contacto con los adhesivos. En una forma de ejecución especialmente preferida este pegado se realiza con adhesivos termofusibles. El especialista conoce otros métodos de fijación y contacto, como por ejemplo la soldadura.

Las dimensiones del elemento detector no tienen que coincidir necesariamente con las del canal capilar o de la malla. En particular el elemento detector puede tener zonas que a pesar de estar unidas con la malla no estén en contacto fluido con la brecha capilar. Dichas zonas son, por ejemplo, partes del elemento detector que se hallan más allá de los límites laterales de la brecha capilar. En tales casos se ha demostrado que conviene emplear elementos detectores capaces de seguir distribuyendo el líquido por todo el volumen disponible del elemento detector. Estos elementos detectores pueden tener estructuras de tela no tejida, por ejemplo, que reparten seguidamente la muestra líquida dentro del elemento detector. En estos casos el transporte de líquido a través de la malla sirve, sobre todo, para establecer un contacto fluido entre el espacio interno de la brecha capilar y el elemento detector, de manera que el líquido llegue por sí solo al elemento detector mediante unas estructuras especiales del mismo, al distribuirse el líquido por su interior. Estas estructuras pueden ser especialmente ventajosas al fabricar elementos detectores a escala industrial, ya que el uso de estructuras reticuladas y elementos detectores de igual anchura puede simplificar considerablemente los procesos de producción.

Sorprendentemente se ha demostrado que el elemento de ensayo según la presente invención es particularmente adecuado para determinar varios parámetros sobre un solo elemento de ensayo. Para ello el elemento de ensayo no tiene solo uno, sino varios elementos detectores que preferiblemente pueden determinar analitos distintos. También

se pueden colocar sobre el elemento de ensayo varios elementos que detecten el mismo analito, a fin de aumentar la sensibilidad o la especificidad de la determinación analítica o ampliar el rango de concentración detectable. En tal caso se pueden usar reacciones de detección idénticas o diferentes.

- 5 Cuando se diseña un elemento de ensayo en forma de tira multiparámetro, los elementos detectores están situados preferentemente uno tras otro en la dirección de flujo del líquido.

10 Como ya se ha mencionado, en los elementos de ensayo que trabajan con telas no tejidas o materiales análogos para el transporte y distribución de la muestra líquida, el movimiento del líquido en estos materiales es bastante lento y por tanto la muestra líquida afluye claramente con retraso a cada elemento de ensayo y se demora el inicio de la reacción de detección en cada elemento detector, lo cual reduce claramente la reproducibilidad de la detección. Si el líquido pasa lentamente por varios elementos detectores pueden producirse efectos de arrastre o depleción que den lugar a determinaciones analíticas inexactas. Además en estos elementos de ensayo suelen producirse problemas de dosificación, porque una buena parte de la muestra líquida queda unida a la tela. Si se deposita poca muestra líquida, los subsiguientes elementos detectores no pueden recibir suficiente cantidad de ella para una determinación analítica exacta. Si en cambio se pone demasiada muestra líquida, los primeros elementos de ensayo, sobre todo, pueden sufrir una sobredosificación. Además ocurren los inconvenientes anteriormente citados para el paciente en caso de cantidades de muestra más grandes.

- 20 Sorprendentemente, el uso según la presente invención de una malla, como la definida en la reivindicación 10, que limita una brecha capilar evita estos problemas de los elementos de ensayo multiparámetro existentes hasta ahora.

25 Mediante el canal capilar de la presente invención el transporte y la distribución de la cantidad de líquido a lo largo de toda la brecha capilar tiene lugar durante muy poco tiempo, de manera que la muestra líquida puede llegar a cada elemento detector con gran simultaneidad. De esta forma el inicio de la reacción de detección es prácticamente simultáneo y queda definido con precisión, lo cual aumenta la reproducibilidad y la exactitud de la medición. Además se evitan problemas de arrastre. La propia malla no tiene actividad capilar, por lo cual el líquido solo es transportado desde la brecha capilar hacia las zonas de los elementos detectores. Esto y el hecho de que en sí la malla no tenga un volumen propio con actividad capilar minimiza claramente la cantidad de muestra necesaria y por consiguiente el perjuicio para el paciente es menor.

35 En una forma de ejecución especialmente preferida hay varios elementos detectores dispuestos uno tras otro sobre la malla y distanciados respectivamente mediante zonas que sirven para unir y/o separar los elementos detectores individuales. Estas zonas de fijación y separación tienen preferiblemente propiedades repelentes de líquidos, sobre todo hidrófobas, y son adyacentes a los respectivos elementos detectores. Así restringen el transporte de líquido de forma que solo puede pasar desde la brecha capilar, atravesando la malla, hacia los elementos detectores, sin llegar a los espacios intermedios entre los elementos detectores individuales. De nuevo pueden reducirse claramente los problemas de arrastre y también el volumen necesario de muestra.

40 Sorprendentemente se ha demostrado que el empleo de adhesivos termofusibles para fijar cada elemento detector también puede servir para distanciarlos entre sí. Para ello, primero se coloca cada elemento detector sobre la malla. A continuación los elementos detectores individuales se fijan con adhesivo termofusible, del modo conocido por el especialista, preferiblemente en los lados de cada elemento detector que son perpendiculares a la brecha capilar. El adhesivo termofusible se aplica en forma líquida sobre los bordes de cada elemento detector y fluye hacia la malla situada por debajo, donde se enfría. De esta forma los propios elementos detectores están fijados directamente a la malla y además están separados entre sí por los espacios intermedios, mediante el adhesivo termofusible hidrófobo. El especialista puede elegir las propiedades y condiciones de aplicación del adhesivo termofusible de manera que éste se infiltre en la malla, fijando sobre ella los elementos detectores y separándolos entre sí, pero sin atravesarla hasta llegar a la brecha capilar, porque eso afectaría mucho al transporte del líquido dentro de la brecha capilar e incluso podría suprimirlo.

55 Este tipo de elemento de ensayo multiparámetro se puede usar preferiblemente para detectar analitos relacionados con un diagnóstico. Así, por ejemplo, sobre un mismo elemento de ensayo se pueden determinar varios analitos distintos, cuya concentración o, en general, ausencia o presencia varía respectivamente de manera característica cuando existe un cuadro clínico. La medición simultánea de varios de estos parámetros interrelacionados permite determinar al mismo tiempo distintos analitos en un solo paso y establecer por tanto un rápido diagnóstico. Además es frecuente que, teniendo en cuenta combinaciones específicas de los resultados individuales de análisis, puedan darse diagnósticos que no son posibles si solo se considera un parámetro. De esta manera se puede incrementar especialmente la especificidad y/o sensibilidad del método diagnóstico. Estos elementos de ensayo multiparámetro pueden estar diseñados, por ejemplo, como panel de lípidos con elementos detectores de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y/o triglicéridos. Otros elementos de ensayo multiparámetro pueden contener, por ejemplo, los parámetros lipídicos antes mencionados y otros parámetros, como por ejemplo glucosa. También son factibles los elementos de ensayo para determinación simultánea de glucosa y hemoglobina glicosilada y/o hemoglobina total.

65 En concreto se puede usar un elemento de ensayo multiparámetro según la presente invención para determinar parámetros relacionados con un mayor riesgo o presencia de enfermedades cardiovasculares. Tales parámetros

son, sobre todo, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL o triglicéridos. Para ello los respectivos elementos detectores se fijan sucesivamente sobre la malla del modo ya indicado. Se prefiere especialmente una combinación de elementos detectores de colesterol, colesterol HDL y triglicéridos sobre un elemento de ensayo. Los elementos detectores para ello pueden prepararse del modo conocido por el especialista. En el presente caso concreto están basados en métodos de detección empleados para determinaciones analíticas reflectométricas. Estos métodos de detección están descritos, por ejemplo, en las hojas de datos de Reflotron® HDL Cholesterol, Reflotron® Cholesterol y Reflotron® Triglycerides (todos ellos de Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania).

Los aspectos arriba citados de la presente invención pueden aplicarse individualmente o en cualquier combinación.

Otro objeto de la presente invención es el uso de un elemento de ensayo analítico según la misma, para determinar un analito en un líquido.

El elemento de ensayo analítico, tal como está definido en una de las reivindicaciones 1 a 9 se puede utilizar en un método de determinación de un analito en una muestra líquida, sobre todo de un líquido corporal como sangre, plasma, suero, orina, saliva, sudor, etc. En concreto se trata de un método para determinar un analito en un líquido con la ayuda de un elemento de ensayo analítico, poniendo en contacto el líquido con el elemento de ensayo, de manera preferente en una zona de colocación de muestra especialmente configurada, tras lo cual el líquido es conducido por capilaridad hacia el canal habilitado para el transporte de líquido, al menos hasta la zona del elemento detector, al que llega atravesando la malla y allí experimenta una reacción de detección específica del analito con los reactivos contenidos en el elemento detector, que puede observarse visualmente o con un aparato, preferentemente mediante fotometría de reflexión, y permite deducir la presencia y, dado el caso, la cantidad del analito buscado.

Primero se pone en contacto la muestra líquida con el elemento de ensayo, preferiblemente en una abertura de colocación de muestra especialmente configurada. La muestra líquida es transportada por capilaridad hacia el canal habilitado para el transporte capilar de líquido. En este caso el transporte tiene lugar al menos hasta las zonas de la brecha capilar situadas frente al elemento detector. La muestra líquida puede penetrar en estas zonas atravesando la malla y experimentar una reacción de detección específica del analito con los reactivos contenidos en el elemento detector, que puede observarse visualmente o con un aparato, preferentemente mediante fotometría de reflexión. Dicha reacción permite deducir la presencia o ausencia y, dado el caso la cantidad, del analito buscado.

La presente invención se ilustra con más detalle mediante las figuras y ejemplos adjuntos, de manera que las figuras 1 hasta 4 representan formas de ejecución preferidas del elemento de ensayo según la presente invención.

La figura 1 representa una forma de ejecución especialmente preferida del elemento de ensayo según la presente invención. En la figura 1A se puede ver una vista superior esquemática del elemento de ensayo según la presente invención; las figuras 1B hasta 1D muestran respectivamente cortes a lo largo de las líneas A-A', B-B' y C-C'.

La figura 2 representa una forma de ejecución especialmente preferida de un elemento de ensayo según la presente invención. En la figura 2A se puede ver una vista superior esquemática del elemento de ensayo según la presente invención; las figuras 2B hasta 2D muestran respectivamente cortes a lo largo de las líneas A-A', B-B' y C-C'.

La figura 3 representa otra forma de ejecución especialmente preferida de un elemento de ensayo según la presente invención, con una zona de colocación de muestra y una abertura de desaireación especialmente configuradas. En la figura 3A se representa una vista superior esquemática del elemento de ensayo según la presente invención; las figuras 3B hasta 3D muestran respectivamente cortes a lo largo de las líneas A-A', B-B' y C-C'.

La figura 4 representa asimismo una forma de ejecución especialmente preferida de un soporte de ensayo multi-parámetro según la presente invención, con varios elementos detectores sucesivos y zona de colocación de muestra y una abertura de desaireación especialmente configuradas. La figura 4A es una vista superior del elemento de ensayo. Las figuras 4B hasta 4D muestran respectivamente cortes a lo largo de los ejes A-A', B-B' y C-C'.

Las cifras de las figuras significan:

- 1 soporte
- 2 capa intermedia
- 3 malla
- 4 elemento detector
- 5 canal capilar
- 6 elemento de fijación
- 7 zona de colocación de muestra
- 8 abertura de desaireación

Descripción de las figuras

En la figura 1 se representa esquemáticamente una forma de ejecución especialmente preferida del elemento de ensayo de la presente invención en diferentes vistas (figuras 1A hasta 1D). La combinación de estas vistas sirve

para dar una impresión figurativa del elemento de ensayo de la presente invención. La figura 1A muestra una vista superior del elemento de ensayo, en la cual no puede verse el soporte (1) porque en esta forma de ejecución está completamente cubierto por la malla (3) y el elemento detector (4). El elemento de ensayo consta de un soporte (1) configurado de manera que, ahí donde está cubierto por la malla (3), forma junto con ella un canal capilar (5). El soporte puede tener, por ejemplo, un hueco hecho por estampación, tratamiento corrosivo o fresado. En la forma de ejecución representada, el soporte (1) tiene forma de U, como puede verse en el corte de la figura 1D a lo largo de la línea C-C'.

En las figuras 1B y 1C muestran cortes longitudinales a través del elemento de ensayo por las líneas A-A' y B-B'. La figura 1B muestra un corte longitudinal en la zona de las paredes laterales del canal capilar y la figura 1C un corte longitudinal en la zona del canal capilar.

La malla (3) se fija al soporte (1) preferiblemente por adhesión, pero también es posible hacerlo por otras técnicas conocidas del especialista, p.ej. por soldadura. En la forma de ejecución representada, la malla (3) cubre toda la superficie del soporte (1), formando con él un canal capilar que al depositar la muestra hace posible que una gota de líquido entre inmediatamente en contacto con dicho canal (5). En el lado del canal capilar opuesto al lado donde se coloca la muestra, debido a la estructura abierta del canal, hay una abertura de desaireación que permite descargar el aire durante el llenado capilar del canal con la muestra líquida y por tanto que el canal capilar se llene de modo total y uniforme. También caben formas de ejecución del elemento de ensayo en que el aire se descarga a través de la propia malla, lo cual permite prescindir de una abertura especial de desaireación. En este caso la malla se debe unir con los demás componentes del elemento de ensayo, preferiblemente, de forma que se asegure una salida de aire detrás del elemento detector o, en el caso de un elemento de ensayo multiparámetro, detrás del último elemento detector, con el fin de garantizar un llenado óptimo. El canal capilar (5) se extiende desde el sitio de colocación de la muestra, por la zona que se encuentra bajo el elemento detector (4), hasta la abertura de desaireación en el extremo opuesto y por tanto garantiza una distribución homogénea de la muestra, sobre todo en la zona que se halla por debajo del elemento detector (4).

El elemento detector (4) está en contacto directo con la malla (3). El elemento detector (4) se puede fijar a la malla (3) mediante técnicas conocidas del especialista. De todos modos debe procurarse que la muestra líquida se pueda transportar desde la malla hasta el elemento detector. En este ejemplo el elemento detector tiene una anchura que se corresponde con la de la brecha capilar y una longitud inferior a la de dicha brecha. En otras formas de ejecución el elemento detector puede tener unas dimensiones diferentes. Por ejemplo, la longitud y/o la anchura del elemento detector puede ser menor que las respectivas dimensiones de la brecha capilar, sobre todo en aquellos casos en que por motivos financieros o constructivos no tiene sentido la elaboración de elementos detectores muy grandes. Por otra parte la longitud y/o la anchura del elemento detector puede ser mayor que las respectivas dimensiones de la brecha capilar, sobre todo en aquellos casos en que la elaboración de elementos detectores muy grandes resulta rentable y los respectivos procesos de producción de los elementos de ensayo están optimizados para elementos detectores de igual anchura que la malla o el soporte. Este es el caso especial de las tiras adhesivas, que, una vez reunidos sus componentes individuales, se subdividen en su forma definitiva, por ejemplo, recortando o troquelando productos intermedios de forma plana. En estos casos los elementos detectores (4) tienen propiedades o estructuras especiales, por ejemplo de tela no tejida, que permiten una distribución de la muestra líquida en el elemento detector lo más uniforme posible.

Durante el uso del elemento de ensayo representado, su punto de colocación de muestra se pone en contacto con la muestra líquida, por ejemplo con una gota de sangre en la yema del dedo. Entonces la muestra líquida entra en contacto con el canal capilar (5), llenándolo por capilaridad hasta llegar al menos a la zona del elemento detector, lo cual sucede en muy breve tiempo, preferiblemente en pocos segundos, gracias a la construcción del elemento de ensayo según la presente invención. Luego puede interrumpirse el contacto del elemento de ensayo con el resto de la muestra líquida, por ejemplo retirándolo del dedo del paciente, pues el funcionamiento del elemento de ensayo según la presente invención garantiza que en un tiempo muy breve haya en el elemento detector una cantidad de sangre suficiente para la determinación del analito. Tras el llenado del canal capilar (5), gracias a las características de la malla según la presente invención y a los espacios intermedios capilares generados conjuntamente por la disposición espacial de la malla y del elemento detector, tiene lugar el transporte de la muestra líquida a través de la malla (3) hacia el elemento detector (4). Ahí se produce entonces la reacción de detección que permite determinar la presencia o ausencia o la concentración del analito buscado. La posible reacción de detección necesaria para la determinación de un analito y los métodos de detección son conocidos del especialista, el cual puede emplearlos en correspondencia con los dispositivos y métodos de la presente invención.

En la figura 2 se representa otra forma de ejecución especialmente preferida como alternativa al elemento de ensayo representado en la figura 1. Las vistas parciales de las figuras 2A hasta 2D sirven nuevamente para proporcionar una impresión espacial del elemento de ensayo según la presente invención. El elemento de ensayo representado contiene según la presente invención un canal (5) habilitado para el transporte capilar de líquido, formado por un soporte inerte (1), dos capas intermedias (2) y la malla (3). Aquí las dos capas intermedias (2) forman los límites laterales, el soporte (1) la superficie base y la malla (3) la cubierta del canal capilar (5). En esta forma de ejecución resulta especialmente ventajoso que el soporte pueda tener forma plana y no hagan falta ninguna etapa adicional de elaboración o proceso para practicar en él una cavidad. Así los procesos de fabricación de estos elementos de

ensayo según la presente invención pueden ser mucho más sencillos y económicos. En este caso la geometría del canal capilar puede ser determinada por las dimensiones de las capas intermedias. Así, la altura del canal capilar, que determina decisivamente las características capilares, puede ajustarse mediante el grosor de la capa intermedia. Con la distancia entre ambas capas intermedias se puede regular la anchura del canal capilar, la cual determina decisivamente su sección y por lo tanto su volumen. Así se puede fijar el volumen de muestra líquida en la brecha capilar y por tanto el uso de este parámetro geométrico permite dosificar el volumen para lograr una determinación lo más exacta posible del analito. La longitud de las capas intermedias puede determinar la longitud del canal capilar, la cual define decisivamente la longitud del trayecto de transporte de la muestra líquida desde la zona de colocación de muestra hasta el elemento detector y por consiguiente la distancia entre los puntos de aplicación y detección, que a su vez tiene una importancia fundamental para que la manipulación sea lo más sencilla e higiénica posible. Los parámetros de longitud, anchura y altura no tienen que cumplir necesariamente las funciones aquí descritas, sino que también cabe la posibilidad de que algunos de estos parámetros adopten las funciones de otros o satisfagan simultáneamente varias funciones. Así, la elección adecuada de la altura de las capas intermedias no solo puede influir en su actividad capilar, sino que además permite ajustar el volumen y conseguir la dosificación de la muestra líquida.

En una forma de ejecución especialmente preferida las capas intermedias están elaboradas con cintas adhesivas de doble cara, las cuales por medio de sus dimensiones geométricas permiten definir exactamente la forma geométrica del canal capilar y al mismo tiempo la unión espacial de los componentes individuales de la brecha capilar. Para ello primero, preferiblemente, se pegan sobre el soporte (1), como capas intermedias, ambas cintas adhesivas de doble cara a una distancia exactamente definida entre ellas. A continuación, después de arrancar las posibles láminas protectoras de la cinta, se pega la malla (3) colocándola y presionando sobre las cintas adhesivas de doble cara de manera que se forme un canal capilar. Con esta forma de ejecución especialmente preferida se pueden producir de manera muy sencilla y económica estos elementos de ensayo según la presente invención.

En la figura 3 se representa esquemáticamente por medio de distintas vistas (figuras 3A hasta 3D) otra forma de ejecución especialmente preferida de un elemento de ensayo según la presente invención. Esta forma de ejecución tiene una capa intermedia (2) que en este diseño concreto consta de una cinta adhesiva especial de doble cara. Esta configuración especial, combinada con la malla (3) colocada en posición adecuada, sirve concretamente para formar una zona de colocación de muestra (7) y una abertura de desaireación (8), las cuales garantizan un llenado total y sin problemas de la brecha capilar con la muestra líquida. La capa intermedia (2) se puede configurar concretamente por troquelado o corte. Debido a la configuración especial de la zona de colocación de muestra (7) y de la abertura de desaireación (8), en esta forma de ejecución la malla (3) no cubre necesariamente toda la superficie base del soporte (1) o la capa intermedia (2), sino que deja al descubierto una parte del soporte o de la capa intermedia aplicada sobre el mismo, especialmente en la zona de colocación de la muestra. Las zonas de la capa intermedia no cubiertas por la malla pueden taparse con una cobertura. Esto es especialmente ventajoso cuando se usa una cinta adhesiva de doble cara como capa intermedia, pues se tapan las zonas adherentes fuera de la malla. En la zona de colocación de muestra se deposita una o más gotas de la muestra líquida que, gracias a la forma especial de dicha zona, entran inmediatamente en contacto con la brecha capilar (5), a la cual la muestra líquida llega enseguida por capilaridad y rápidamente es transportada hacia el elemento detector. La abertura de desaireación también puede estar especialmente configurada. Para que el consumo de material sea menor puede ser conveniente que la malla y por tanto el canal capilar termine poco después del elemento detector, tal como aparece en la forma de ejecución representada. Además en esta forma de ejecución preferida el elemento detector (4) también cubre la malla (3) en zonas que ya no están en contacto directo con el canal capilar (5). Para tales casos el elemento detector (4) posee propiedades o estructuras capaces de repartir el líquido que afluye del canal capilar por todo el elemento detector. Así, el elemento detector puede tener estructuras de tela no tejida o papeles. Asimismo, en esta forma de ejecución preferida el elemento detector (4) se une a la malla (3) mediante dos elementos de fijación (6) que al menos están colocados en dos lados del elemento detector y lo sitúan sobre la malla en una posición determinada. Otra misión de estos elementos de fijación es establecer el contacto entre el lado inferior del elemento detector y el lado superior de la malla, de modo que la muestra líquida pueda pasar por capilaridad del canal capilar (5), atravesando la malla (3), al elemento detector (4), lo cual puede lograrse en concreto presionando o apretando el elemento detector sobre la malla. Para ello, por ejemplo, los elementos de fijación pueden estar configurados de modo que solapen el elemento detector por los bordes, fijándolo así a la malla. Según una forma de ejecución especialmente preferida el elemento detector se fija a la malla aplicando un adhesivo termofusible en dos puntos del borde del elemento detector y en las zonas próximas de la malla. Una vez enfriado, el adhesivo termofusible fija el elemento detector en su posición sobre la malla y, presionando hacia la malla, establece el contacto necesario entre el elemento detector y la malla para la transferencia del líquido.

En la figura 4 se representa una forma de ejecución especialmente preferida de un soporte multiparámetro según la presente invención, con varios elementos detectores sucesivos y una zona de colocación de muestra y una abertura de desaireación especialmente configuradas. La figura 4A es una vista superior del elemento de ensayo. Las figuras 4B hasta 4D muestran respectivamente cortes a lo largo de los ejes A-A', B-B' y C-C'.

El elemento de ensayo representado aquí tiene como ejemplo tres elementos detectores (4) separados entre sí por elementos de fijación (6), pero también se incluyen elementos de ensayo que llevan dos o más de tres elementos detectores. Aquí los elementos detectores pueden detectar el mismo analito, pero preferiblemente se combinan en

forma de un elemento de ensayo multiparámetro para la detección de distintos analitos. Los elementos de fijación tienen preferiblemente propiedades repelentes de líquidos, sobre todo hidrófobas, y son adyacentes a los elementos detectores. De esta forma restringen el transporte del líquido de manera que solo puede tener lugar desde la brecha capilar, atravesando la malla, hasta el respectivo elemento detector, sin riesgo de mezcla lateral de los segmentos líquidos individuales y por tanto de problemas de arrastre. Este tipo de elemento de ensayo multiparámetro se puede emplear con especial preferencia en forma de panel de ensayo, para detectar analitos en un contexto diagnóstico. En particular un elemento de ensayo multiparámetro según la presente invención se puede usar para determinar parámetros relacionados con una elevada probabilidad o existencia de enfermedades cardiovasculares. Este tipo de parámetros son, sobre todo, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL o triglicéridos. Se prefiere especialmente una combinación de elementos detectores para colesterol, colesterol HDL y triglicéridos situados uno tras otro sobre el elemento de ensayo en forma de panel de ensayo.

Ejemplos:

Ejemplo 1:

Elaboración de un elemento de ensayo analítico según la presente invención (véase fig. 4)

Sobre una hoja soporte de polietilentereftalato de 350 μm de espesor (Melinex®, ICI, Frankfurt am Main, Alemania) previamente hidrofiliada por tratamiento con dioctilsulfosuccinato sódico (al 2% en etanol, Merck KgaA, Darmstadt, Alemania) se pega una cinta adhesiva de doble cara de 200 μm de espesor a pocos mm del borde. La hoja soporte tiene una longitud de 75 mm y una anchura de 5 mm. La cinta adhesiva tiene una longitud de 35 mm y también una anchura de 5 mm. Además, en el extremo que corresponde a la posterior abertura de desaireación, la cinta adhesiva tiene un troquelado central de 2 mm de ancho y 15 mm hasta 25 mm de largo, que define las dimensiones del canal capilar. El lado del troquelado opuesto a la abertura de desaireación empalma preferentemente con una zona de colocación de muestra especialmente configurada, constituida por un troquelado oval de 6 mm de largo y 3 mm de ancho. La longitud del troquelado se puede elegir de manera que sea algo mayor que la longitud deseada del canal capilar activo, definida por su cobertura, a fin de garantizar la desaireación del canal durante el llenado con muestra líquida. Sobre la cinta adhesiva se pega a lo largo de la brecha capilar - es decir, desde la zona de colocación de la muestra hasta la abertura de desaireación - una malla de 5 mm de anchura. La malla es de tejido monohilo de PET (Sefar Petex 07-98/34 de Sefar AG, Rueschlikon, Suiza). Para mejorar las propiedades de transporte de líquidos según la presente invención, la malla se hidrofiliiza adicionalmente sumergiéndola en dioctilsulfosuccinato al 0,1% (Merck KgaA, Darmstadt, Alemania). Además, las partes de la cinta adhesiva troquelada que no están cubiertas por la malla en la zona de colocación de la muestra se tapan con una lámina inerte. Sobre la malla - que está unida con la hoja soporte mediante la cinta adhesiva - se fijan 3 elementos detectores con adhesivo termofusible, de manera que el líquido puede ser transportado desde el canal capilar, a través de la malla, hacia los elementos detectores. Para ello el adhesivo termofusible, todavía en estado líquido, se aplica sobre los lados de los elementos detectores perpendiculares al canal capilar y penetra, al menos parcialmente, en la malla. Una vez solidificado el adhesivo termofusible, los elementos detectores quedan fijados a la malla de manera que se impide el desplazamiento lateral de dichos elementos. Además, mediante la fijación con adhesivo termofusible los elementos detectores se aprietan sobre la malla, con lo cual la muestra líquida puede pasar del canal capilar, a través de la malla, hacia el elemento detector. Aquí hay que procurar especialmente que a través de la malla no se infiltre adhesivo termofusible en la brecha capilar, porque perturbaría el transporte de la muestra líquida en la brecha capilar e incluso podría impedirlo. Los elementos detectores contienen los reactivos necesarios para la reacción de detección del respectivo analito, así como sustancias auxiliares, cuando es preciso. Este tipo de elemento de ensayo es especialmente adecuado como elemento de ensayo multiparámetro, para determinar parámetros relacionados con un elevado riesgo o existencia de enfermedades cardiovasculares. A tal fin se fijan con adhesivo termofusible sobre la malla elementos detectores para colesterol HDL, colesterol y triglicéridos. Estos elementos detectores están descritos por ejemplo en las hojas de datos de Reflotron® HDL Cholesterol, Reflotron® Cholesterol y Reflotron® Triglycerides (todos ellos de Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Aquí el adhesivo termofusible no sirve exclusivamente para fijar los elementos detectores, sino que además impide que pase líquido de un elemento detector a otro y por consiguiente minimiza los problemas de arrastre. Para ello los elementos detectores pueden tener, por ejemplo, una anchura de 5 mm y una longitud de unos 4 mm. Los segmentos de adhesivo termofusible que fijan y separan cada elemento detector tienen preferiblemente una anchura de 5 mm y una longitud de 1 a 2 mm.

Ejemplo 2:

Medición de parámetros lipídicos con ayuda del elemento de ensayo del ejemplo 1

El elemento de ensayo del ejemplo 1 se pone en contacto con una gota de sangre en la zona de colocación de la muestra. Los capilares del elemento de ensayo se llenan por sí solos uniformemente de muestra líquida al cabo de 3-5 segundos. La muestra líquida afluye con gran simultaneidad a las zonas de los elementos detectores, a través de la malla, con lo cual se inicia la respectiva reacción de detección. Al cabo de pocos segundos se hace visible en el elemento detector un desarrollo de color, que transcurrido el tiempo de medición se usa para la determinación del analito. Este tiempo de medición es, por ejemplo, de unos 135 segundos para una determinación de colesterol HDL según el principio Reflotron® HDL Cholesterol, de unos 135 segundos para una determinación de colesterol según el

principio Reflotron® Cholesterol y de unos 180 segundos para una determinación de triglicéridos según el principio Reflotron® HDL Triglycerides. La intensidad de la coloración del elemento detector se mide por fotometría reflexiva. Esta intensidad de la coloración se correlaciona con la concentración del analito en la muestra.

REIVINDICACIONES

1. Elemento de ensayo analítico para determinar al menos un analito en un líquido, que lleva un soporte, al menos un elemento detector y un canal habilitado para el transporte capilar de líquidos, caracterizado porque el canal habilitado para el transporte capilar de líquidos está formado al menos por una malla hidrófila que está en contacto directo, al menos parcialmente, por un lado con el espacio interior del canal y por el lado opuesto con el elemento detector, de modo que la malla es un tejido monofilamento y tiene una luz de 10 hasta 500 μm , preferiblemente de 20 hasta 300 μm , con especial preferencia de 50 hasta 150 μm , así como un espesor de 10 hasta 500 μm , preferiblemente de 20 hasta 300 μm , con especial preferencia de 50 hasta 150 μm , lo cual permite un transporte de líquido a través de la malla, hacia el elemento detector.
2. Elemento de ensayo analítico según la reivindicación 1, caracterizado porque la malla no es de por sí absorbente y al sumergirlo verticalmente en agua permite que ésta suba en la malla hasta una altura inferior a 2 mm.
3. Elemento de ensayo analítico según una de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque el canal habilitado para el transporte capilar de líquidos posee una zona de colocación de muestra en uno de sus extremos y/o una abertura de desaireación en el extremo opuesto.
4. Elemento de ensayo analítico según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque, además de la malla, al menos también es hidrófila otra de las superficies dirigidas hacia el espacio interior del canal habilitado para el transporte capilar de líquidos.
5. Elemento de ensayo analítico según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque la malla es de polietilentereftalato que preferiblemente está hidrofiliado mediante un tratamiento con un agente humectante.
6. Elemento de ensayo analítico según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque el tejido monofilamento tiene un diámetro de hilo de 10 hasta 300 μm , preferiblemente de 30 hasta 150 μm , con especial preferencia de 50 hasta 100 μm .
7. Elemento de ensayo analítico según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el elemento detector contiene los reactivos necesarios para la reacción de detección del analito en el líquido, así como, dado el caso, otras sustancias o estructuras auxiliares, sobre todo estructuras filtrantes para componentes corpusculares de la muestra.
8. Elemento de ensayo analítico según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque en el lado de la malla opuesto al canal hay situados varios elementos detectores.
9. Elemento de ensayo analítico según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque el o los elementos detectores pueden detectar la presencia y, dado el caso, la concentración de colesterol, colesterol HDL o triglicéridos o una combinación de estas sustancias.
10. Uso de un elemento de ensayo analítico según una de las reivindicaciones 1 a 9 para determinar un analito en un líquido.

Fig. 1A

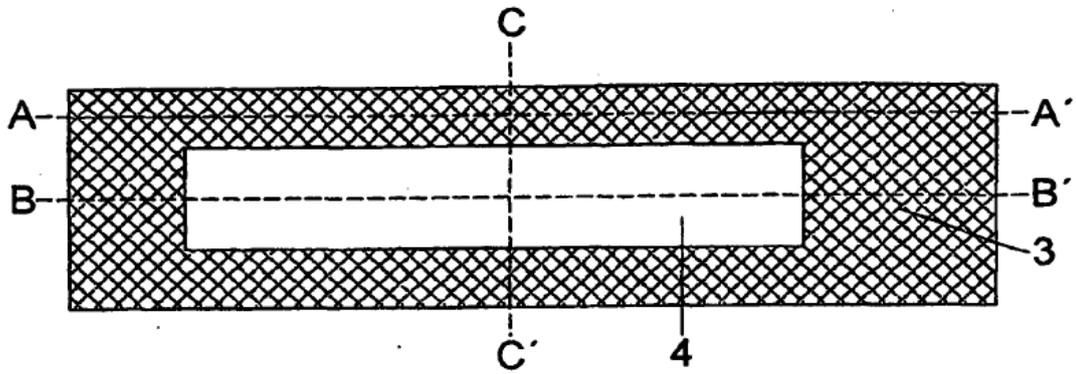


Fig. 1B

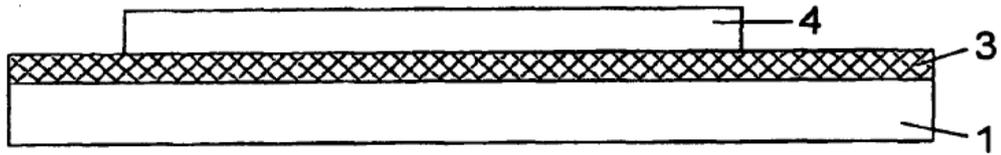


Fig. 1C

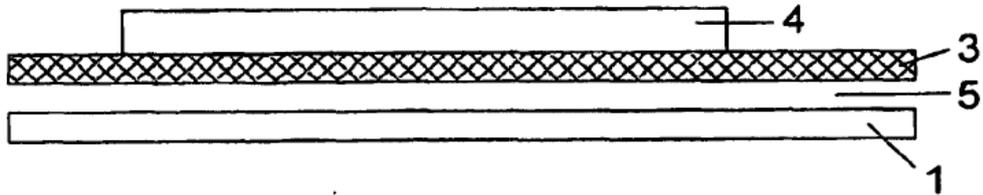


Fig. 1D

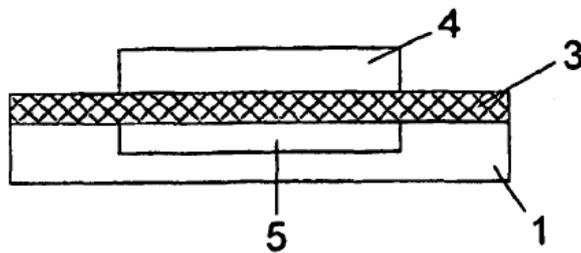


Fig. 2A

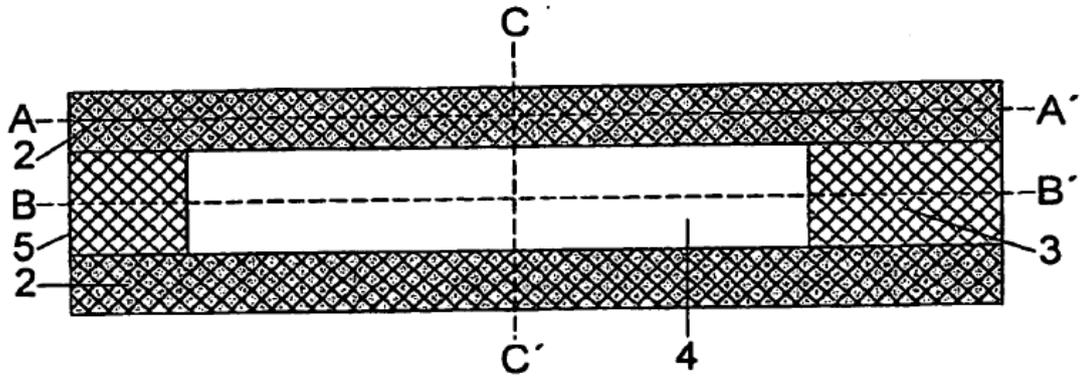


Fig. 2B

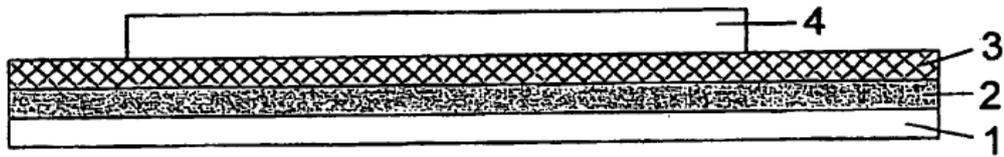


Fig. 2C

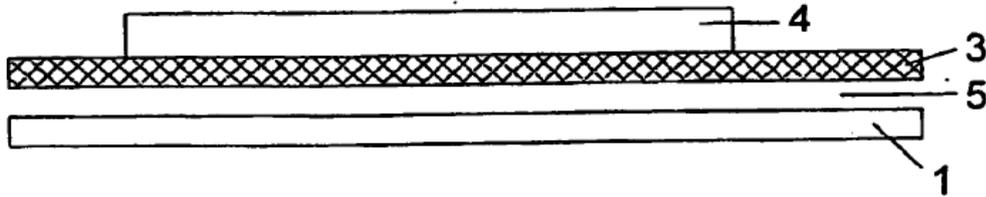


Fig. 2D

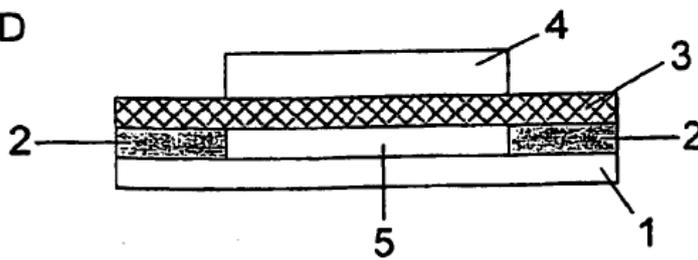


Fig. 3A

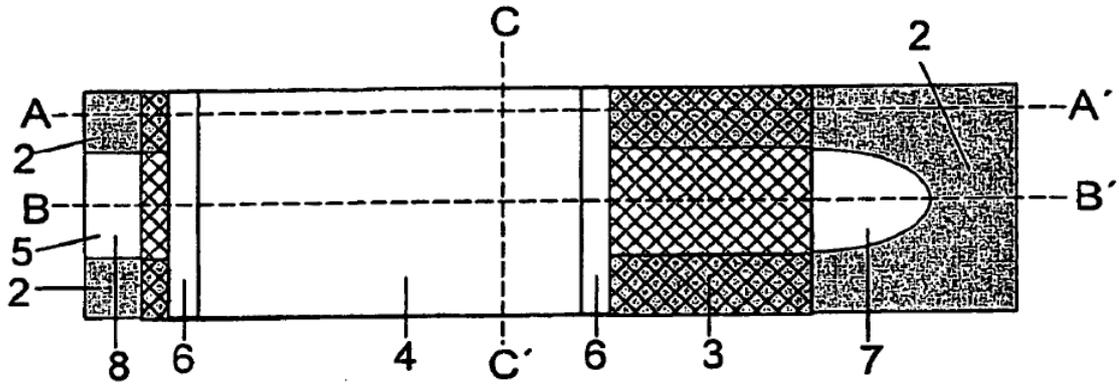


Fig 3B

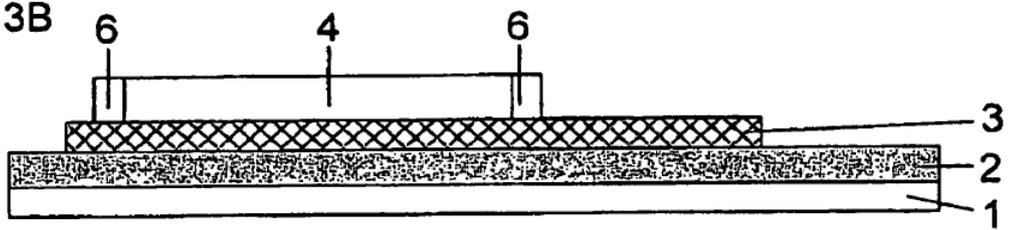


Fig. 3C

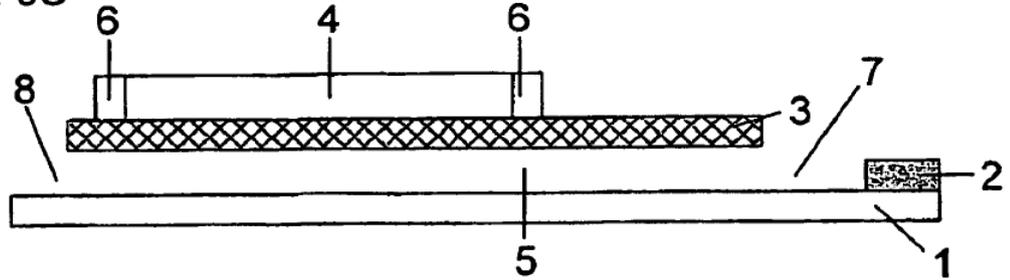


Fig. 3D

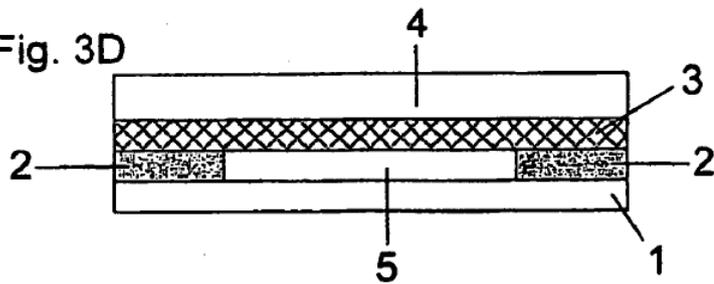


Fig. 4A

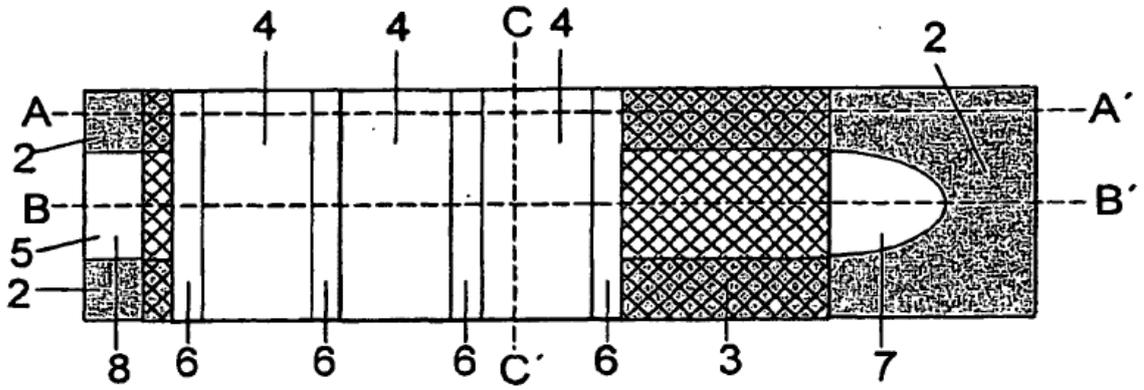


Fig. 4B

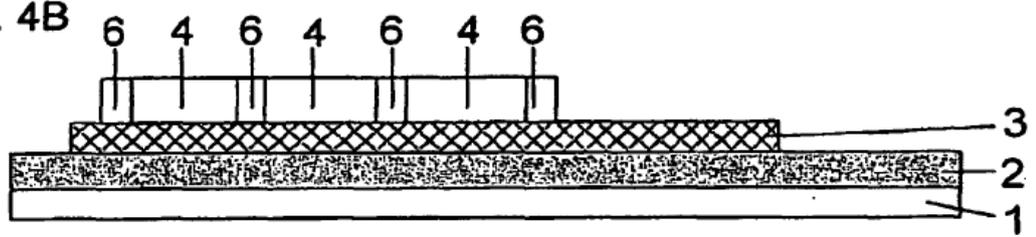


Fig. 4C

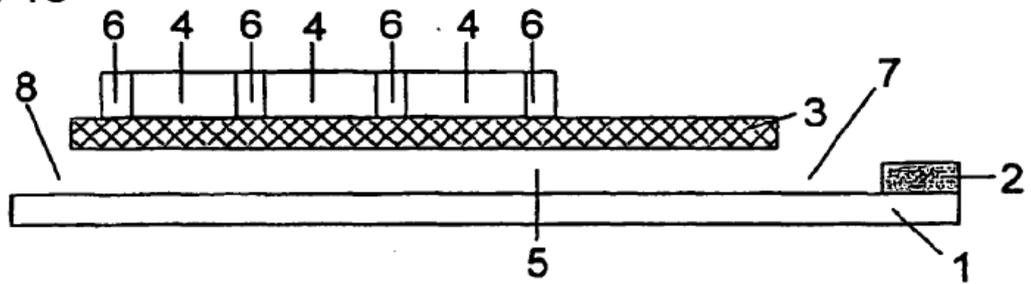


Fig. 4D

