

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 072**

51 Int. Cl.:

A61B 5/151 (2006.01)

G01N 33/52 (2006.01)

C12Q 1/54 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.08.2010 E 10742091 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2013 EP 2464290**

54 Título: **Elemento de ensayo para el análisis de un líquido corporal**

30 Prioridad:

13.08.2009 EP 09010434

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:

**HAAR, HANS-PETER y
HOENES, JOACHIM**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 430 072 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 para el análisis de un líquido corporal

5 La presente invención se refiere a un elemento de ensayo para efectuar una punción en una parte del cuerpo, con el fin de extraer un líquido corporal de dicha parte del cuerpo y analizar un analito que contiene. También son objeto de la presente invención un proceso para elaborar el elemento de ensayo según la presente invención y un sistema analítico del cual forman parte un elemento de ensayo según la presente invención y un dispositivo de evaluación especialmente adaptado para valorar dicho elemento.

10 Estos elementos y sistemas de ensayo se utilizan sobre todo para análisis médicos. Son usuales en numerosas variantes para la determinación cuantitativa y cualitativa de diversos analitos. Sobre todo tienen gran importancia médica y económica los sistemas de análisis de la concentración de glucosa en la sangre de los diabéticos. Aunque la presente invención es especialmente adecuada para estos sistemas, no se limita a ellos. Otro analito importante es, por ejemplo, el colesterol.

15 La presente invención se dirige especialmente a los casos de empleo en que el propio paciente realiza el análisis para vigilar su estado de salud ("control doméstico"). En ellos se trata principalmente de facilitar el manejo. Además los dispositivos de evaluación deben ser lo más pequeños, ligeros y resistentes posible.

20 La muestra necesaria para el análisis suele obtenerse mediante un pinchazo en el dedo o en otra parte del cuerpo. La muestra líquida es sangre y/o fluido intersticial, aunque en lo sucesivo se refiere a sangre, sin limitación de su alcance general. En los sistemas analíticos actualmente más usados se emplean instrumentos diferentes para la toma de muestra y el análisis, esto es, un aparato de lancetas para efectuar una punción en un parte del cuerpo de la que salga sangre y elementos de análisis, por ejemplo en forma de tiras de ensayo, que se ponen en contacto con la sangre extraída del pinchazo y seguidamente se valoran mediante un aparato perteneciente al sistema analítico. Esto requiere una operación en varios pasos: pinchazo en el dedo, manipulación de la superficie de la piel para favorecer la salida de sangre, contacto de la tira de ensayo con la gota de sangre y valoración mediante el aparato. Estos pasos, además de costar tiempo, son desagradables y para muchos pacientes, la mayoría de ellos ancianos y/o limitados por la enfermedad, difíciles de realizar.

25 Para superar estos problemas se han propuesto sistemas analíticos en que todos los pasos necesarios para realizar el análisis, desde la punción en el dedo hasta la indicación del resultado analítico, tienen lugar de manera totalmente automática, sin que el usuario tenga que efectuar otras manipulaciones después del pinchazo. En la literatura en lengua inglesa estos sistemas se denominan "G&M-systems", porque permiten obtener la muestra ("G" de "get") y medir el valor analítico ("M"). La mayoría de sistemas G&M funcionan con elementos de ensayo que, como piezas integrales, poseen un elemento de punción y también el elemento necesario para realización del análisis. Ambos componentes del elemento de ensayo (elemento de punción y elemento de análisis) suele montarlos el fabricante ya en origen, formando dicho elemento de ensayo. No obstante hay otros sistemas G&M en los cuales el elemento de análisis y el elemento de punción se acoplan luego en el aparato, creando entre ambos un contacto que permite el paso del líquido corporal desde el elemento de punción hasta el elemento analítico y se denomina "contacto fluido".

Los sistemas G&M están descritos, por ejemplo, en las siguientes publicaciones:

- 45 (1) WO 01/72220
- (2) WO 03/009759
- (3) EP 1 360 931 A1
- (4) EP 1 360 933 A1
- (5) WO 2005/084546
- (6) WO 2006/105968
- 50 (7) WO 2007/045412

Las características de los elementos de ensayo utilizados influyen decisivamente en el funcionamiento del sistema del cual forman parte. Deben cumplir una serie de requisitos difíciles y en parte contrapuestos. Por un lado hay que lograr una gran exactitud analítica y por otro la construcción debe ser lo más sencilla posible, para que la fabricación resulte económica. Para poder alojar muchos elementos de ensayo en un aparato, tienen que ser lo más pequeños posible. La condición para un análisis rápido y fiable es que solo hace falta un volumen muy pequeño de muestra, normalmente inferior a 1 µl. Por último los elementos de ensayo y los respectivos dispositivos de evaluación deben ser suficientemente resistentes para garantizar un funcionamiento cotidiano seguro.

60 Partiendo de ahí, la presente invención tiene por objeto proporcionar un elemento de ensayo, y su correspondiente sistema, que tenga mejores propiedades en relación con las exigencias anteriormente planteadas para resolver el problema técnico.

65 Este problema técnico se resuelve con un elemento de ensayo para efectuar una punción en una parte del cuerpo, a fin de extraer una muestra de líquido corporal de dicha parte del cuerpo y analizarla mediante un sistema reactivo, cuya reacción con un analito contenido en el líquido corporal produce una variación de una magnitud medible, que

es característica del resultado analítico deseado y se puede determinar ópticamente en el elemento de ensayo, el cual comprende un elemento de punción y un área de ensayo que contiene al menos una parte del sistema reactivo, de modo que el elemento de punción presenta en un extremo una punta para efectuar una punción en la parte del cuerpo y una estructura capilar en contacto fluido con la zona de la punta, de tal manera que después de clavar la punta del elemento de punción en la piel penetra líquido corporal en la estructura capilar, y el elemento de punción y el área de ensayo pueden situarse recíprocamente en una posición de transferencia de líquido para que el área de ensayo esté en contacto fluido con una parte de la estructura capilar del elemento de punción y el líquido corporal infiltrado en la estructura capilar pueda pasar al área de ensayo. El área de ensayo comprende una capa soporte transparente y una capa de ensayo aplicada como recubrimiento sobre la capa soporte, de modo que el lado de la capa de ensayo opuesto a la capa soporte forma el lado de entrada de líquido, que en la posición de transferencia de líquido es contiguo a la estructura capilar. Por tanto, en la posición de transferencia de líquido, el lado de entrada de líquido del área de ensayo limita inmediata y directamente con la estructura capilar. El paso de líquido desde la estructura de retención capilar a la capa de ensayo es directo, sin intervención de cualquier otra parte, sobre todo sin ningún otro elemento estructural situado entre la estructura capilar y la capa de ensayo.

El elemento de punción tiene preferentemente una forma alargada, con uno de sus extremos en forma puntiaguda para pinchar en una parte del cuerpo. La punta se encuentra preferiblemente en un extremo donde convergen las superficies laterales del elemento de punción alargado. Dichas superficies laterales terminan en la punta y además pueden tener los bordes afilados. Al utilizar el elemento de punción, su parte delantera, siguiendo la dirección de punción, penetra, empezando por la punta, en la piel. Luego el líquido corporal entra en la estructura capilar y es transportado, dentro de ella, hasta la parte del elemento de punción donde tiene lugar la transferencia al área de ensayo, también llamada zona de transferencia de líquido. No es necesario que el líquido penetre solo directamente por la punta. Hay otras formas de ejecución en que la propia punta está cerrada y la estructura capilar presenta tras la punta una abertura para la entrada del líquido corporal. La parte del elemento de punción que penetra en la piel y por la cual el líquido corporal entra en la estructura capilar también se denomina en lo sucesivo zona de la punta. En el elemento de punción la estructura capilar se extiende desde la zona de la punta hasta la zona de transferencia de líquido y por lo tanto permite que, tras el pinchazo del elemento de punción en la parte del cuerpo, el líquido corporal penetre en la estructura capilar y sea transportado desde la zona de la punta hasta la zona de transferencia de líquido. La zona de transferencia de líquido de la estructura capilar puede solaparse parcial o totalmente con la zona de la punta o se encuentra en una zona del elemento de punción situada distalmente respecto a la zona de la punta.

En el caso más sencillo – como en la mayoría de los elementos de punción conocidos del estado técnico - la estructura capilar es un simple canal. Según una forma de ejecución preferida, detallada más adelante, la estructura capilar incluye una estructura matricial bidimensional con una serie de celdas. En general sirve como estructura capilar cualquier configuración del elemento de punción (como componente del sistema de ensayo) a través de la cual el líquido de muestra puede ser transportado, por efecto de las fuerzas capilares en el elemento de punción, hacia la zona de transferencia de líquido. En al menos una parte de su longitud, la estructura capilar puede tener forma ranurada o semiabierta, o incluso de canal cerrado al menos parcialmente. La zona de transferencia de líquido puede estar al final de la estructura capilar (p.ej. al final de la ranura o del canal cerrado al menos parcialmente) o en una zona de la estructura capilar accesible, es decir adecuada para la transferencia de líquido, entre el comienzo de la estructura capilar (en la zona de la punta del elemento de punción) y su final (p.ej. en el entorno de una estructura ranurada semiabierta o de una zona abierta del canal parcialmente cerrado). Para asegurar el efecto capilar exigido, la estructura capilar suele estar formada por un material hidrófilo o hidrofíllizable.

No es necesario que el elemento de ensayo venga de fábrica con sus componentes ya montados, de manera que el elemento de punción y el área de ensayo se encuentren en la posición de transferencia de líquido. Por consiguiente la transferencia de líquido desde el elemento de punción hasta la capa del área de ensayo no debe tener lugar sin más, en particular sin una aproximación recíproca de estos elementos, una vez que haya penetrado una cantidad suficiente de líquido corporal en la estructura capilar del elemento de punción. La presente invención comprende más bien formas de ejecución en las cuales el área de ensayo y la estructura capilar del elemento de punción están separadas tras la fabricación del elemento de ensayo y solo se ponen en posición de transferencia de líquido cuando están en el aparato de análisis, donde se establece el contacto fluido entre ambas. El elemento de punción y el área de ensayo pueden pertenecer asimismo a partes separadas del elemento de ensayo (por ejemplo en forma de un cargador de elementos de ensayo y de un cargador analítico) empleadas en el aparato de análisis. Por lo tanto debe entenderse que el término “elemento de ensayo” comprende en general cualquier montaje que permita poner en contacto fluido un elemento de punción y un área de ensayo en una posición de transferencia de líquido. También son posibles las configuraciones constituidas por dos elementos de ensayo, siempre que estén formados en un aparato de análisis para su uso conjunto. Asimismo son posibles las configuraciones en que el área de ensayo va fijada al elemento de punción, con lo cual existe un contacto fluido permanente, es decir que el paso de líquido tiene lugar sin movimiento relativo de ambos componentes del elemento de ensayo, en cuanto una cantidad suficiente de líquido corporal ha penetrado en la estructura capilar del elemento de punción.

El análisis tiene lugar mediante un sistema reactivo que consta en general de varios reactantes y aditivos integrados en el elemento de ensayo, y su reacción con un analito contenido en el líquido corporal produce una variación de una magnitud medible en el elemento de ensayo, que es característica del resultado analítico deseado.

De la literatura correspondiente pueden extraerse más detalles. Se encuentra por ejemplo un resumen en el artículo de J. Hönes y otros "The Technology Behind Glucose Meters: Test Strips" [*Tecnología de los medidores de glucosa: tiras de ensayo*], en *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2008, suplemento 1, p. 10 hasta 26.

5 La presente invención va dirigida particularmente a los llamados elementos y sistemas de análisis óptico, en los cuales la variación del elemento de ensayo característica para el análisis se puede medir ópticamente. En general la reacción producida en los elementos de ensayo ópticos varía el color de una capa o superficie que forma parte del elemento de ensayo y se denomina capa o superficie de detección. La variación de color de la capa de detección se mide fotométricamente. Aparte de estos sistemas de ensayo "colorimétricos" se conocen otros que también pueden valorarse ópticamente, por ejemplo sistemas en que la magnitud medible es una señal de fluorescencia. En general la presente invención se refiere a sistemas en los cuales el análisis está basado en la medición de una magnitud ópticamente detectable en el elemento de ensayo, siendo el valor de la medición óptica característico del resultado analítico esperado. A continuación, sin limitación del carácter general, se hace referencia a variaciones de color como ejemplo de magnitudes ópticamente medibles.

15 Los elementos de análisis óptico conocidos poseen una estructura soporte, que en general es de material sintético y casi siempre tiene forma de tira estrecha y alargada ("tira de ensayo"). Una zona del elemento de ensayo en la cual se encuentra al menos una parte de los reactivos se designa como área de ensayo (en inglés: "chemistry pad"). El área de ensayo puede constar de una o más capas en contacto fluido mutuo y generalmente paralelas entre sí.

20 En los elementos de análisis usuales, las capas del área de ensayo que contienen reactivos suelen estar formadas por un material laminar poroso (por ejemplo papel, tela no tejida o membrana plástica), de modo que los reactivos quedan integrados en los poros de la capa. Al elaborar la capa de ensayo, los reactivos se introducen en los poros del material de la capa y permanecen ahí en forma soluble o fijados a la fase sólida (por ejemplo mediante enlace covalente). En cualquier caso la capa porosa forma una matriz sólida de soporte para los reactivos, que también se conserva cuando la muestra líquida penetra en la matriz y disuelve los reactivos. Por lo tanto este tipo de capa de ensayo también se puede denominar capa de ensayo matricial. En este tipo de capa de ensayo la muestra líquida acuosa es absorbida por el material poroso de la capa y solo ahí entra en contacto con los reactivos.

30 En la presente invención se usa otro tipo conocido de área de ensayo, en la cual se aplica una capa de ensayo en forma de recubrimiento sobre un material soporte adecuado ("coated test layer" [*capa de ensayo aplicada*]). En lo sucesivo este tipo de capa de ensayo también se designa como capa CTL. Para preparar una capa CTL, también llamada "film de ensayo", los reactivos se mezclan con un ligante o espesante formando una masa de recubrimiento viscosa. Una vez aplicado y seco el recubrimiento se forma un film delgado sobre el material soporte transparente. Por lo tanto el espesante o ligante también se denomina "filmógeno". La capa CTL se aplica (superpone) sobre el soporte transparente no poroso, sin que el filmógeno o los reactivos penetren en el material soporte. La capa CTL debe estar formada de manera que en contacto con la muestra líquida acuosa se produzca la reacción necesaria para el análisis entre el analito contenido en la muestra y los reactivos contenidos en la capa CTL. Para asegurarlo la capa CTL debe ser preferiblemente, como mínimo, algo soluble y/o hinchable. Una propiedad característica de este tipo de capa CTL, en comparación con las citadas capas de ensayo matriciales, es que no tiene una estructura porosa duradera, incluso después de la penetración de la muestra líquida acuosa. No obstante, para dotar de una estructura de retención de líquido a estas áreas de ensayo, en el estado técnico se usan estructuras reticuladas o telas no tejidas, que permiten la penetración de la muestra líquida y como elemento adicional del área de ensayo, adyacente a la capa CTL, proporcionan una columna de líquido de altura y volumen definidos. Al contrario que en el estado técnico, las áreas de ensayo de la presente invención no poseen ninguna estructura adicional de retención de líquido (un material de capa resistente al líquido). Según la presente invención, la columna líquida de muestra, de altura y volumen definidos, que en la posición de transferencia de líquido está en contacto inmediato y directo con la capa CTL, es proporcionada por la estructura capilar del elemento de punción.

50 Para la presente invención son particularmente adecuados los sistemas de reacción enzimáticos. Contienen un enzima que reacciona específicamente con el analito. En el caso del análisis de glucosa como enzima se usa, por ejemplo, glucosa deshidrogenasa (GDH) y en el marco de la presente invención se usa con especial preferencia GDH dependiente de PQQ, también denominada GlucDOR (glucosa-colorante-óxidorreductasa). La reacción entre la glucosa y el enzima produce otra reacción de un reactivo cromógeno (indicador), asociada a una variación de color. El sistema de reacción contiene preferentemente otros componentes reactivos, sobre todo un mediador que facilita la transferencia de electrones del enzima al indicador, propia de la reacción, y por tanto acelera el análisis. Esto también está explicado con mayor detalle en la literatura correspondiente, por ejemplo en la citada publicación de J. Hönes y otros.

60 En el elemento de ensayo de la presente invención el área de ensayo comprende una capa soporte transparente y una capa de ensayo aplicada por recubrimiento (capa CTL) sobre esta capa soporte, sin una estructura adicional de retención de líquido. En la presente invención la estructura de retención de líquido la proporciona el elemento de punción cuando está en la posición de transferencia de líquido. En el elemento de ensayo, el área de ensayo está orientada de manera que el lado de la capa CTL opuesto a la capa soporte forma la cara de entrada de líquido y en la posición de transferencia de líquido es adyacente a la estructura capilar del elemento de punción, por lo cual en dicha posición de transferencia puede haber un contacto directo e inmediato entre el líquido corporal existente en la

estructura capilar del elemento de punción y la capa CTL. La capa CTL puede constar de varias capas parciales. Preferiblemente incluye dos capas parciales: una primera capa parcial aplicada sobre la capa soporte, que es una capa de reacción y contiene al menos una parte de los reactivos del sistema de reacción, y una segunda capa parcial aplicada sobre la capa de reacción, que es una capa opaca de barrera a la luz. Ésta contiene un pigmento (por ejemplo TiO_2) que impide en gran medida el paso de luz a través de la capa barrera. El tamaño de partícula del pigmento es preferiblemente adecuado para que los eritrocitos no puedan pasar a través de dicha capa barrera o solo en muy pequeña proporción.

Durante el análisis la muestra líquida es transportada a través de la estructura capilar hacia la zona de transferencia de líquido. Cuando el elemento de punción y el área de ensayo se hallan en la posición de transferencia de líquido, la muestra líquida penetra (perpendicularmente al plano del área de ensayo) en la capa de ensayo adyacente y disuelve los reactivos ahí contenidos, por lo cual tienen lugar las reacciones previstas del sistema reactivo con el analito. Esto produce un cambio de color en la capa de ensayo. Debido a gradientes de concentración entre la capa de ensayo y la muestra líquida tienen lugar procesos de difusión de componentes reactivos de la capa de ensayo y de componentes ya reaccionados de la misma (productos) hacia la muestra líquida acuosa. La medición óptica de la variación de color se realiza (preferiblemente por fotometría de reflexión) a través de la capa soporte transparente, preferentemente en un momento en el que se alcanza un estado casi estacionario de dichos procesos de difusión. Por consiguiente la capa de detección está formada por la capa CTL, preferiblemente por su capa de reacción.

En la forma de ejecución preferida con capa de barrera a la luz queda ampliamente excluida una perturbación de la medición óptica por la hemoglobina, como colorante rojo de la sangre contenido en la muestra, porque la capa de barrera bloquea la luz de medición y (preferiblemente) al mismo tiempo también el paso de los eritrocitos de la capa líquida existente en la estructura capilar hacia la capa de reacción, al menos en gran parte. Este procedimiento para evitar la perturbación por hemoglobina en las determinaciones ópticas y más detalles sobre capas adecuadas de barrera a la luz son conocidos de la correspondiente literatura, por ejemplo en la patente US 5,846,837.

En las detecciones ópticas a las que se refiere la presente invención, la reacción cromógena característica para el análisis tiene lugar localmente en la capa CTL. En el caso de la estructura bicapa preferida para la capa CTL, la coloración se concentra en la capa de reacción – transparente en comparación con la capa de barrera a la luz –, que por tanto también puede denominarse capa de formación de color. Este efecto es debido principalmente a que la capa CTL solo se disuelve parcial y lentamente al entrar en contacto con la muestra líquida acuosa. En el momento de la medición tiene una consistencia viscosa y está localizada junto a la capa soporte. Por tanto la coloración se forma en la capa de detección junto a la capa soporte transparente.

Los resultados ventajosos así logrados son evidentes en comparación con el documento (3), EP 1360931 A1. Ahí se describe un elemento de ensayo que consta esencialmente de un elemento de punción con una cavidad en forma de cubeta llamada “zona matricial” (área matricial) y una capa superior que recubre dicha cavidad (“capa de cobertura”).

En una primera forma de ejecución la capa superior es transparente, es decir no porosa. Los reactivos del sistema cromógeno (“sistema productor de señal”) se introducen en la zona matricial de la cavidad en forma de cubeta.

Cuando al realizar un ensayo la muestra líquida penetra en la cavidad en forma de cubeta, la coloración se produce en dicha cavidad y puede observarse a través de la capa superior transparente. El gran volumen de la cavidad en forma de cubeta requiere una gran cantidad de reactivo y un largo tiempo de reacción para obtener una coloración suficiente.

En una segunda forma de ejecución del documento (3) se prevé que la capa superior sea porosa y por lo tanto no transparente. En este caso el espacio necesario para la reacción química del sistema de formación de color viene dado por los poros de la capa superior. La capa superior consta de un material poroso absorbente cuyos poros son impregnados por los reactivos. Es una capa de ensayo matricial en el sentido explicado arriba. La formación de color se puede observar en la superficie de la capa de ensayo tras la penetración de la muestra líquida y el desarrollo de la reacción cromógena. Este proceso es lento y requiere un tiempo de ensayo correspondientemente largo. En comparación con el ensayo de la presente invención hay que emplear una mayor cantidad de reactivo para lograr una coloración de intensidad parecida y por tanto una exactitud similar del ensayo.

En la presente invención la reacción y la formación del color ocurren en un espacio muy concentrado, principalmente en la capa CTL. A este respecto, según una forma de ejecución preferida de presente invención, es especialmente ventajoso que al menos una parte del sistema de reacción, en particular el enzima o el mediador, sobre todo el enzima, esté unido a otro componente de la capa de ensayo, en concreto a una carga contenida en dicha capa (es decir, a un componente de la capa de ensayo que no participa en la reacción). Esta condición se cumple sobre todo al emplear GlucDOR junto con un componente de la capa CTL cargado negativamente (p.ej. basado en silicato sódico-alumínico). El enzima está cargado positivamente y por lo tanto se establece un enlace basado en fuerzas electrostáticas: Sin embargo también se pueden usar otros mecanismos de enlace, por ejemplo a base de un enlace covalente con otros componentes de la capa CTL (sobre todo no involucrados en la reacción). Con este enlace se ralentiza la difusión del respectivo componente del sistema de reacción tras la penetración de la muestra líquida y por tanto se favorece la localización cerca de la capa soporte transparente.

Esta localización de la reacción y de la coloración es la razón por la cual los métodos ópticos de ensayo empleados en la presente invención permiten efectuar análisis muy sensibles con cantidades de muestra extremadamente pequeñas. La capa de ensayo es con preferencia extremadamente delgada (sobre todo de 20 μm como máximo) y por tanto solo requiere una cantidad muy pequeña de muestra en relación con la superficie de la capa de ensayo (como máximo, preferiblemente, 0,1 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, sobre todo 0,05 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$). El contacto de la muestra líquida acuosa con la capa de ensayo hincha y/o disuelve componentes de la capa de ensayo y por tanto desencadena procesos de difusión de los componentes, tanto reactivos como ya reaccionados (productos), de la capa de ensayo en la muestra líquida acuosa y también en sentido inverso, de la muestra líquida a la capa de ensayo, aunque en menor medida. A pesar de ello la concentración de los participantes en la reacción es elevada en la zona de la superficie de detección y la coloración intensa. En este sentido el ensayo óptico de la presente invención se diferencia fundamentalmente de los ensayos electroquímicos, en los cuales los reactivos se disuelven dentro de la cámara de reacción provista de electrodos (cámara de electrodos) y por tanto el volumen de reacción está determinado por el tamaño de la cámara de electrodos.

Cuanto mayor es el volumen de muestra disponible en el área de ensayo, más duran los procesos de difusión entre los componentes reactivos de la capa de ensayo y la muestra líquida. Por consiguiente, una medición reproducible de la concentración de un analito solo es factible cuando la reacción y los procesos de difusión se encuentran en un estado casi estacionario que permita calibrar adecuadamente un aparato medidor previsto para valorar un elemento de ensayo de la presente invención. Esto presupone que el estado casi estacionario de la reacción y de los procesos de difusión es igual en cada medición. Por una parte esto está garantizado porque los reactivos químicos de ensayo de la capa CTL se aplican respectivamente de forma reproducible sobre la capa soporte. Por otra parte, teniendo en cuenta que el ajuste de un estado casi estacionario de los procesos de difusión depende del volumen, la altura de la columna líquida y por lo tanto el volumen de muestra líquida por encima del área de ensayo debe dimensionarse considerando que el volumen para el proceso de difusión es infinito. Entonces la medición del sistema puede tener lugar con independencia del volumen.

En el marco de la presente invención se comprobó que, a pesar del empeño en tener un volumen de muestra lo más pequeño posible, era ventajoso construir el elemento de ensayo de modo que el lado de entrada de líquido del área de ensayo estuviera en contacto durante la reacción con una capa de líquido cuyo grosor tuviera un valor mínimo suficiente para minimizar la influencia de los procesos de difusión en el desarrollo de la reacción entre los reactantes presentes en la muestra líquida y los reactivos del área de ensayo, así como en su medición óptica, a fin de que ésta pudiera tener lugar independientemente del volumen. Aquí se trata de la dimensión de la capa líquida perpendicular al plano del área de ensayo. Esta altura se designa en lo sucesivo como columna de líquido.

La altura de la columna líquida (es decir, el grosor de la capa líquida) determina en este caso la duración del tiempo de medición para la cual está configurado el elemento de ensayo. Por tanto la altura de la columna líquida debería estar dimensionada de manera que los procesos de difusión arriba descritos entre la muestra líquida acuosa y los componentes de la capa reactiva del elemento de ensayo solo tuvieran una influencia insignificante en el desarrollo y el resultado de la medición óptica.

A pesar del empeño en tener un volumen de muestra lo más pequeño posible y un tiempo de medición reducido, es decir el tiempo entre el primer contacto del área de ensayo con la muestra líquida y la medición óptica (en el caso de varias mediciones ópticas, la última), debe garantizarse la mínima altura necesaria de la columna líquida para lograr la deseada independencia de los procesos de difusión. La mínima altura requerida de la columna líquida y por tanto también el volumen necesario por encima del área de ensayo depende de los correspondientes reactivos de ensayo, así como de la estructura y del grosor de la capa CTL. Respecto a esta correlación pueden indicarse, por ejemplo, los siguientes datos numéricos:

- La estructura capilar debería estar formada de manera que el grosor de la capa líquida adyacente al lado de entrada de líquido, determinado por dicha estructura, fuera como mínimo de 100 μm cuando el elemento de ensayo estuviera diseñado para un tiempo máximo de medición de 15 segundos.
- La estructura capilar debería estar formada de manera que el grosor de la capa líquida adyacente al lado de entrada de líquido, determinado por dicha estructura, fuera como mínimo de 50 μm cuando el elemento de ensayo estuviera diseñado para un tiempo máximo de medición de 5 segundos.
- La estructura capilar debería estar formada de manera que el grosor de la capa líquida adyacente al lado de entrada de líquido, determinado por dicha estructura, fuera como mínimo de 20 μm cuando el elemento de ensayo estuviera diseñado para un tiempo máximo de medición de 1 segundo.

Por consiguiente es indispensable escoger la altura de la columna líquida, en sintonía con la química de ensayo y la estructura de la capa CTL, a un nivel suficiente para evitar la alteración de los resultados de la medición a causa de procesos de difusión, es decir, para que la medición pueda tener lugar independientemente del volumen.

Esta condición mínima referente a la columna líquida requiere un volumen adicional. Sin embargo los elementos de ensayo de la presente invención pueden construirse extremadamente pequeños porque la necesaria columna líquida no se dispone en la parte analítica del elemento de ensayo, sino en el elemento de punción. Así, la estructura capilar integrada en el elemento de punción constituye una "estructura de retención de líquido" que mantiene disponible la

columna necesaria de líquido en contacto con el área de ensayo óptico. El líquido está en intercambio directo de difusión con la capa CTL y los reactivos del sistema contenidos en ella. En tal caso no hace falta que se establezca un equilibrio total de difusión. Basta con que haya un intercambio de difusión suficiente para permitir una medición óptica reproducible.

5 Así pues, la estructura capilar integrada en el elemento de punción tiene dos funciones. Por una parte promueve el transporte del líquido corporal desde la zona de la punta del elemento de punción hasta el extremo distal del mismo y por otra parte actúa como "estructura de retención de líquido", asegurando que el líquido corporal pueda pasar de la estructura capilar al elemento de ensayo y el mantenimiento de un valor mínimo prefijado del grosor de la capa líquida en la zona humectada, al menos hasta el final de la medición, así como su disponibilidad junto al área de ensayo durante la medición. De esta forma se consigue la exactitud de medición deseada, a pesar de los procesos de difusión entre componentes de la capa reactiva del área de ensayo y el líquido corporal retenido en la estructura capilar. No se necesita ninguna estructura adicional de retención de líquido como en los elementos de ensayo del estado técnico. En su lugar hace esta función el elemento de punción, que preferiblemente es metálico.

15 En la posición de transferencia de líquido la capa de ensayo limita por su lado de entrada de líquido directamente con la estructura capilar. Entre el lado de entrada de líquido de la capa de ensayo y la estructura capilar no hay por tanto ninguna otra capa, concretamente ninguna estructura de retención de líquido, como por ejemplo una malla o una tela no tejida. La única estructura de retención de líquido del elemento de ensayo está formada por la estructura capilar que hay en el mismo, es decir, en la estructura capilar del elemento de ensayo el líquido está en intercambio directo de difusión con la capa CTL del área de ensayo. La capa CTL no contiene ningún componente poroso que pueda servir de estructura de retención de líquido.

20 Tanto en extensión superficial como en grosor, el área de ensayo puede tener unas dimensiones extremadamente pequeñas. Preferentemente está integrada en el elemento de ensayo de tal forma, que su soporte es el elemento de punción. En este aspecto difiere básicamente de una tira de ensayo completa (o de otros elementos analíticos) como la empleada en anteriores diseños de un elemento de ensayo G&M.

25 En total con la presente invención se logran ventajas decisivas:

- 30 – La construcción es sencilla y económica, como se explica luego más detalladamente.
- A pesar del tamaño mínimo de la capa de retención de líquido la construcción resulta extremadamente pequeña en conjunto. Esto no solo contribuye a que el volumen necesario de muestra sea pequeño, sino que además aumenta la sensibilidad del ensayo.

35 El elemento de ensayo según la presente invención está diseñado de tal forma que, al menos en un momento de la transferencia, la estructura capilar del elemento de ensayo se acerque a la capa de ensayo para permitir el paso (directo) de líquido de la estructura capilar al área de ensayo. Por tanto en este momento el área de ensayo se halla en la posición de transferencia, en la cual el lado de entrada de líquido de la capa de ensayo limita directamente con la estructura capilar del elemento de ensayo. Sobre todo, entre la estructura capilar del elemento de ensayo y la

40 capa de ensayo no hay ninguna estructura adicional de retención de líquido. Antes o después del momento de la transferencia, el elemento de punción y el área de ensayo pueden hallarse recíprocamente en una posición en la cual no es posible el transporte de líquido, pero deben poderse situar en dicha posición de transferencia.

45 En la presente invención, la estructura de retención de líquido que falta en el área de ensayo es proporcionada por la estructura capilar del elemento de punción. Como la estructura de retención de líquido solo debe estar disponible durante la transferencia de líquido al área de ensayo, basta con una aproximación o contacto entre el elemento de punción y el área de ensayo solo o poco antes del momento de transferencia de líquido. En esta forma de ejecución, el elemento necesario para el análisis no se completa hasta que el elemento de punción se aproxima de forma que la estructura capilar proporciona una estructura de retención de líquido al área de ensayo y llega sangre a dicha área desde el elemento de punción.

50 En una forma de ejecución especialmente preferida la estructura capilar del elemento de punción comprende una estructura matricial plana bidimensional con una serie de celdas. Abarca concretamente la zona de transferencia de líquido del elemento de punción donde tiene lugar el contacto fluido con el área de ensayo. Cada una de las celdas de la estructura matricial posee una cavidad, cuyo mayor tamaño es inferior a la anchura media del canal capilar del elemento de punción. Las cavidades de las celdas tienen una altura definida, que es perpendicular a la extensión bidimensional de la estructura matricial (plano de la matriz) y garantiza el valor mínimo de grosor de la capa líquida.

55 Las cavidades de las celdas están en mutuo contacto fluido mediante pasos de líquido, con lo cual un líquido que penetra en la estructura matricial se reparte bidimensionalmente por una serie de celdas. Las celdas están abiertas a un lado de transferencia de la estructura matricial que es contiguo al lado de entrada de líquido del área de ensayo. De esta forma el líquido puede pasar de la estructura matricial al área de ensayo.

60 Se designa como estructura matricial bidimensional (plana) una estructura con una serie de celdas situadas unas junto a otras en un plano de una matriz. Preferiblemente, en el espacio perpendicular al plano de una matriz (que es paralelo al plano del área de ensayo) solo hay celdas a un nivel. La estructura matricial plana tiene pues la "altura"

de una celda. Por consiguiente un líquido transferido del canal capilar al área de ensayo solo llega a la altura de una celda (en dirección perpendicular al plano de la matriz).

5 La estructura matricial plana está preferentemente en contacto fluido con el canal capilar y la estructura capilar y reparte el líquido que afluye a la estructura matricial desde el canal capilar sobre una anchura superior a la de dicho canal, antes de que el líquido entre en contacto con la capa de ensayo del área de ensayo. El líquido se reparte por la superficie de manera que alcanza un nivel mínimo deseado en las celdas. Así se asegura que el campo abarcado por una óptica esté humectado lo más uniformemente posible.

10 En el marco de la presente invención se ha comprobado que con esta estructura matricial de celdas se consigue una distribución del líquido muy homogénea. La estructura capilar tiene la función de capa difusora. Cuando la estructura matricial tiene forma de malla, en los círculos especializados se habla de una malla difusora. En el sentido de la presente invención, difusión se refiere a la distribución de un líquido en el plano de la matriz, de tal manera que en la zona de humectación se mantiene un valor mínimo prefijado del grosor de la capa líquida, la cual está disponible durante la medición en el área de ensayo. El líquido se distribuye preferiblemente en la estructura matricial de forma que mantiene una altura mínima de llenado en todas las celdas (humectadas) y solo se llena otra celda cuando se ha superado la altura mínima de líquido en las celdas ya llenadas.

20 En el marco de la presente invención se ha comprobado que – en particular con un pequeño volumen de sangre (por ejemplo de 100 nl o menos) – el modo de distribución de la sangre en cada celda de la estructura matricial es de especial importancia. Las celdas individuales deben presentar un grosor de líquido mínimo definido, a fin de que la exactitud de la medición en el líquido repartido no dependa de la cantidad de sangre (volumen) o de la altura de la capa de sangre. La estructura matricial de celdas satisface este requisito de manera fiable. El elemento de punción de la presente invención permite además una difusión rápida y muy controlada, de manera que la capa de ensayo es humectada simultánea o casi simultáneamente por las celdas llenadas. Una humectación muy diferente durante el tiempo produce fallos de medición no despreciables. El concepto “simultáneo” se debe considerar en función del tiempo de medición. La distribución se considera simultánea cuando el líquido se reparte sobre las celdas en una décima parte, preferiblemente en una vigésima parte del tiempo de medición.

30 En una forma de ejecución preferida el elemento de punción se elabora en una etapa única de proceso con el canal capilar y la estructura matricial. La elaboración se realiza preferentemente mediante grabado con ácido o corte con láser.

35 El método de elaboración de un elemento de punción con un canal capilar y una estructura matricial es en concreto un proceso de fotograbado, en el cual, después del enmascaramiento con laca fotosensible y una exposición a medios corrosivos de las estructuras no enmascaradas, se genera el elemento de punción con el canal capilar y la estructura matricial de múltiples celdas.

40 En una forma de ejecución preferida la estructura matricial bidimensional se genera por grabado durante el mismo proceso que sirve para producir el canal capilar. El corte con láser de la estructura matricial plana, también preferido, en una etapa adicional del proceso de corte láser no aumenta en la práctica los costes de fabricación del elemento de ensayo, ya que los costes de inversión del láser son bajos.

45 A continuación la presente invención se explica más detalladamente mediante las formas de ejecución preferidas representadas en las figuras. Las particularidades ahí representadas se pueden usar individualmente o combinadas para lograr configuraciones preferidas de la presente invención. Las formas de ejecución aquí descritas no suponen ninguna limitación de la presente invención definida en las reivindicaciones. En las figuras se muestra:

- Fig. 1 un principio de esquema de un aparato analítico con una serie de elementos de ensayo;
- Fig. 2 una forma de ejecución de un elemento de ensayo;
- 50 Fig. 3a hasta c representaciones detalladas de formas de ejecución alternativas de un elemento de punción con una estructura matricial;
- Fig. 4a hasta d otra forma de ejecución de un elemento de punción;
- Fig. 5a hasta d dos formas de ejecución de una estructura matricial como parte del elemento de ensayo según la presente invención;
- 55 Fig. 6a hasta c formas de ejecución alternativas de un elemento de ensayo;
- Fig. 7 a, b un principio de esquema de un elemento de ensayo dispuesto sobre cinta laminar; y
- Fig. 8 un principio de esquema de una planta de producción para elaborar un elemento de punción.

60 La fig. 1 muestra un sistema analítico 1 con un aparato de análisis 2 y un cargador 2a con elementos de ensayo 3, que está contenido en el aparato 2. Cada elemento de ensayo 3 comprende un elemento de punción 4 y un área de ensayo 5.

65 El aparato de análisis 2 tiene una carcasa 6 y un mecanismo de acoplamiento 7 al elemento de punción 4 para moverlo en la dirección del pinchazo. Dicho mecanismo de acoplamiento 7 está ensamblado con una unidad de accionamiento 7a que mueve una estructura 7b acoplable al elemento de punción 4.

Una unidad de medición y valoración 8 sirve para medir una variación de un reactivo del elemento de ensayo 3 que reacciona con el líquido corporal para detectar un analito de dicho líquido. Se puede realizar un análisis cuantitativo o cualitativo. Preferentemente se analiza el contenido de glucosa en la sangre. En el ejemplo señalado la unidad de medición y valoración 8 funciona según un principio de medición fotométrico y posee una óptica 8a que mide el elemento de ensayo 3.

El aparato de análisis 2 comprende una unidad indicadora (pantalla) 9 para representar los resultados del análisis. El paciente o usuario que usa el aparato de análisis 2 puede leer directamente el resultado. Por lo tanto el paciente o usuario del aparato de análisis 2 dispone de un "tratamiento en un solo paso". Coge el aparato de análisis 2 con una abertura 6a del mismo sobre la yema del dedo 6b, de manera que el elemento de punción 4 pueda pincharla.

La fig. 2 muestra un esquema de un corte a través de un elemento de ensayo 3 con un elemento de punción 4 y un área de ensayo 5. El elemento de punción 4 tiene una estructura capilar 13 que en el caso más simple está formada por un canal capilar 15. Como alternativa la estructura capilar 13 comprende una estructura matricial, como p.ej. la que se ilustra más adelante con mayor detalle en las figuras 4 y 5.

El área de ensayo 5 comprende una capa soporte 100 transparente impermeable al líquido y una capa de ensayo 101 que limita con la capa soporte 100 y está aplicada como recubrimiento sobre la misma. En el presente caso la capa de ensayo 101 está formada por una capa reactiva 102 y una capa de barrera a la luz 103, de manera que la capa reactiva 102 limita con la capa transparente 100. Por su cara opuesta a la capa reactiva 102 la capa de barrera a la luz 103 presenta un lado de entrada de líquido 104 que forma un plano de área de ensayo 105. El plano del área de ensayo 105 es perpendicular al plano del corte y limita con el canal capilar 15 del elemento de ensayo 3.

Como ya se ha mencionado, la capa de ensayo 101 con sus dos capas parciales (la capa reactiva 102 y la capa de barrera a la luz 103) está configurada preferiblemente de forma que la capa de barrera a la luz separa los eritrocitos al penetrar la muestra, evitando que el color rojo de la sangre pase a la capa reactiva en cantidad suficiente para interferir. La capa reactiva está formada de manera que en estado húmedo dispersa mucho menos la luz que la capa barrera. Ambas capas se basan preferiblemente en una dispersión o emulsión, con el empleo del mismo filmógeno, aunque también se pueden usar filmógenos diferentes. Asimismo se prefiere que la capa reactiva, y también con preferencia la capa de barrera a la luz, contenga un agente expansor. Además la capa de barrera a la luz contiene una carga que no interviene en la reacción, pero favorece la penetración de la muestra líquida en la capa. Para ello en la presente invención se usa preferentemente sílice precipitada (en inglés: precipitated silicic acid). La capa de barrera a la luz contiene un pigmento fuertemente difusor de la luz, por ejemplo TiO_2 . En cualquier caso, en ambas capas se emplean cargas o pigmentos diferentes, para que en estado húmedo la capa reactiva disperse menos la luz que la capa barrera. El coeficiente de dispersión de la capa de barrera a la luz es preferiblemente, como mínimo, diez veces mayor que el coeficiente de dispersión de la capa reactiva.

Por motivos de claridad, las proporciones dimensionales del elemento de ensayo 3 representadas en la figura 2 no corresponden a las reales. En realidad el grosor de la capa soporte 100 es mucho mayor que el de capa de ensayo 101 aplicada por recubrimiento. El grosor de la capa soporte es preferiblemente de unos 50 μm hasta 200 μm . El grosor de la capa de ensayo 101 es de pocos μm , preferiblemente inferior a 30 μm , con especial preferencia inferior a 20 μm y sobre todo inferior a 10 μm . La relación de espesores entre la capa de barrera a la luz 103 y la capa reactiva 102 está comprendida en un intervalo de 3:1 a 1:3. En general el área de ensayo 5 limita y está en contacto con el elemento de punción 4, de manera que el plano del área de ensayo 105 queda a ras del lado de entrada de líquido 104 y del lado superior del elemento de punción 4, así como del lado abierto del canal capilar 15. Por lo tanto el plano del área de ensayo 105 se corresponde con el lado de transferencia de la estructura capilar 13.

El líquido que entra en el canal capilar 13 humecta la capa de ensayo 101 y penetra en ella. La variación de color producida por el líquido en la capa de ensayo 101 se mide ópticamente mediante un rayo de luz 200 que penetra en la capa soporte 100 por su lado opuesto a la capa de ensayo 101. El rayo de luz 200 es dispersado y reflejado dentro de la capa de ensayo 101, preferiblemente dentro de su capa reactiva 102. La capa reactiva 102 es una capa de detección 106, en la cual se produce la variación de color. El cambio de color ocurrido en la capa de ensayo 101 hace variar la dispersión y por lo tanto el rayo de luz reflejado por el elemento de ensayo 3, que se puede valorar ópticamente. La capa de barrera a la luz 103 impide la entrada de la luz 200 en la estructura capilar 13 y que, por ejemplo, los glóbulos rojos de la sangre presente en el canal capilar afecten a la medición óptica.

La fig. 3a muestra un corte de una forma de ejecución especial del elemento de punción 4, el cual es una aguja hueca 11 con una punta que aquí no está representada. La aguja hueca 11 presenta una estructura capilar 13 que comprende varias cavidades 14 yuxtapuestas integradas en la pared externa de la aguja hueca 11 y en su extremo opuesto a la punta. Las cavidades 14 pueden ser por ejemplo cuadradas y su contorno no mide más de 50 μm , con preferencia no más de 30 μm . La altura de las cavidades 14, o sea su medida en la dirección radial de la aguja hueca 11, varía preferiblemente entre 30 μm y 100 μm , sobre todo es menor de 50 μm , y viene determinada por el grosor del material de la aguja hueca 11. Como las dimensiones de las cavidades 14 son menores que el diámetro de la aguja hueca 11, el efecto de capilaridad en cada cavidad 14 es mayor que el de la aguja hueca 11. La sangre fluye desde la aguja 11 hacia las cavidades 14 y se reparte uniformemente por varias de ellas. Por aproximación de un área de ensayo 5, preferiblemente arqueada y comunicada con la aguja hueca 11, la estructura capilar 13 forma

una estructura de retención de líquido para el área de ensayo 5, que no tiene ninguna propia.

Las figuras 3b y 3c muestran respectivamente un corte de otras dos formas de ejecución del elemento de punción 4 de la presente invención. La aguja 10 es plana y posee una estructura capilar 13 con un canal capilar 15 abierto por un lado, que se prolonga desde una punta aquí no representada. El canal capilar 15 está abierto por ambos lados en su extremo más alejado 12, donde hay una segunda abertura 16 que llega hasta el fondo 17 del canal capilar 15. Además el canal capilar 15 también está abierto por su extremo 12. La segunda abertura 16 también forma parte en el fondo 17 de la estructura capilar 13 y p.ej. puede estar formada por una malla o una estructura matricial.

La figura 3c representa una forma de ejecución en que el extremo distante 12 del canal capilar 15 está doblado (a 90 grados preferiblemente). Con un movimiento relativo en la dirección de la flecha 34 entre el elemento de punción 4 y un área de ensayo, aquí no representada, la estructura capilar 13 se puede poner en contacto fluido con el área de ensayo (posición de transferencia de líquido) para transferir una muestra líquida. La estructura capilar 13 forma entonces la estructura de retención de líquido del elemento de análisis.

En las figuras 4a hasta 4d se representa otra forma de ejecución de un elemento de ensayo 3 según la presente invención, que también tiene un elemento de punción 4 plano con una aguja 10 en un extremo. La aguja 10 tiene en su extremo libre 18 una punta 19 para realizar la punción. Partiendo de la punta 19, en la dirección longitudinal de la aguja 10 se extiende un canal capilar 15, abierto por un lado, hasta una pieza plana 20 del elemento de punción 4. En una zona 21 cercana a su extremo distante 12, el canal capilar 15 tiene otra cavidad 16 en el fondo 17, por tanto ahí está abierto por ambos lados.

La parte 21 del canal capilar 15, abierta por ambos lados, es un segmento del mismo distante de la punta 19, que está más cerca del extremo 12 que de la punta 19. Por debajo de la parte 21 hay una estructura capilar, sobre todo una estructura matricial 24, que distribuye el líquido entrante. El canal capilar 15 puede prolongarse más allá de este segmento. Esto tiene la ventaja de que la sangre que entra en el canal capilar 15 procedente de la punta 19 pasa primero por la estructura matricial 24, con lo cual una primera cantidad parcial de sangre se acumula en una zona situada en el extremo distante 12 del canal capilar 15. Esta cantidad parcial de sangre no penetra en la estructura matricial 24 porque la velocidad de flujo dentro del canal capilar 15 es tan grande que el efecto de capilaridad de la estructura 24 es inferior a la fuerza ejercida por dicha velocidad de flujo. Así se evita que sea analizada la primera cantidad parcial de sangre, la cual puede estar contaminada con partículas de sudor, por ejemplo. Cuando la sangre llega al extremo libre del canal capilar 15 disminuye la velocidad de flujo. Entonces el efecto de capilaridad de la estructura 24 absorbe la sangre.

La figura 4b representa la parte inferior 22 del elemento de punción 4. En la zona abierta 21 se halla la estructura capilar 13 en forma de estructura matricial 24, que preferiblemente va unida con el elemento de punción 4 en una sola pieza. El elemento de punción 4 y la estructura matricial 24 forman con especial preferencia un solo elemento. Ambos son de metal. La parte abierta 21 es una zona de transferencia de líquido 35 por la cual pasa un líquido desde la estructura capilar 13 (a través de la estructura matricial 24) hacia un área de ensayo 5 contigua (fig. 4c).

La figura 4c representa un área de ensayo 5 situada en el lado inferior 22 del elemento de punción 4, de modo que la estructura capilar 13 está cubierta por el área de ensayo 5. El área de ensayo 5 comprende una capa soporte 23 y una capa de ensayo 23a con una zona de ensayo 23b, figura 4d. La zona de ensayo 23b se halla preferiblemente en la parte abierta 21 y está adaptada a la estructura capilar 13 allí situada. La zona de transferencia de líquido 35 se extiende a lo largo de la estructura matricial 24, aquí no representada. Según esta forma de ejecución, la zona de transferencia de líquido 35 es un poco más pequeña que la zona de ensayo 23b; pero también puede mayor o igual que la zona de ensayo 23b. En esta forma de ejecución la zona de transferencia de líquido 35 se corresponde al menos con la parte abierta 21.

Las figuras 5a, 5b y 5c, 5d representan distintas formas de ejecución de una estructura matricial 24 bidimensional que pueden ser parte de una estructura capilar 13 de un elemento de ensayo 3 según la presente invención. La estructura matricial 24 bidimensional posee una serie de celdas 25 que presentan respectivamente una cavidad 26, cuya mayor dimensión es inferior a la anchura media del canal capilar del elemento de ensayo 3. Gracias a las pequeñas dimensiones de las celdas 25, el efecto de capilaridad de la estructura matricial 24 es superior al del canal capilar 15 y por lo tanto afluye líquido del canal capilar 15 hacia la estructura matricial 24. En este caso la fuerza de capilaridad es el componente principal y preferiblemente el único. El grosor de la capa de líquido y el volumen de líquido correspondiente en la estructura matricial 24 es menor que el volumen proporcionado por el canal de líquido (canal capilar 15) y disponible para una medición. Así se consigue que la estructura matricial 24 se halle siempre suficientemente llena y que el resultado de la medición sea independiente de la cantidad de líquido disponible en primer lugar.

En estas formas de ejecución preferidas las cavidades 26 de las celdas 25 están mutuamente en contacto fluido mediante los pasos de líquido 27, de manera que cuando un líquido entra en la estructura matricial 24 se reparte bidimensionalmente por una serie de celdas 25. Las celdas 25 están abiertas por un lado de transferencia 28 de la estructura matricial 24, para que el líquido pase a una capa de ensayo del área de ensayo 5.

La estructura matricial 24 según la figura 5a tiene la forma de una rejilla abierta por su cara superior, la cual es preferiblemente un lado de entrada de líquido 29. Las celdas 25 son de sección rectangular, sobre todo cuadrada. El lado de las celdas debería medir 20 hasta 50 μm . Su grosor es preferiblemente de 20 hasta 100 μm . Naturalmente pueden tener cualquier otra forma (redonda).

En una estructura matricial 24 paralela y adyacente a un canal capilar 15 de un elemento de punción 4 el líquido pasa del canal capilar 15 a la estructura matricial 24. El lado inferior 28 de la estructura matricial 24, como lado de transferencia del líquido, también está abierto y por tanto permite el paso de líquido al área de ensayo 5. El líquido se reparte en la estructura matricial 24 formado, tal como es deseable, una columna líquida en cada celda 25.

Bajo la denominación estructura matricial 24 bidimensional (plana) se entiende una estructura en que las celdas 25 solo son contiguas en un plano (plano de la matriz). No se prevé ninguna disposición de celdas 25 superpuestas.

Tal como muestra la figura 5a, la estructura matricial 24 puede ser abierta por ambos lados. Por consiguiente, con la situación de la estructura matricial 24 al final del canal capilar 15 y la entrada lateral de la muestra líquida a dicha estructura, se puede ubicar un área de ensayo tanto en el lado inferior (lado de transferencia 28) como en el lado superior de la estructura matricial 24, lo cual permite realizar una doble medición para el control independiente de los resultados. Como alternativa también se pueden efectuar dos mediciones simultáneas, por ejemplo cuando hay que determinar dos analitos o parámetros distintos de una sola muestra. Ha resultado ser ventajoso que la estructura matricial 24, como en la fig. 5a, sea de metal, pues una estructura metálica se humecta mucho más deprisa que un tejido o una napa.

La forma de ejecución de la estructura matricial 24 según la figura 5b muestra una placa base 30 con una serie de resaltes 31 en su lado inferior. Entre los resaltes 31 se forman las celdas individuales 25 de la estructura matricial 24. La placa base 30 tiene una cavidad 32 en su lado superior por la que el líquido puede entrar en cada celda 25. El líquido se reparte por una serie de celdas 25, creando un nivel de líquido (columna líquida) predeterminado en cada celda 25 rellena y solo entonces prosigue la distribución de líquido a las celdas 25 contiguas. La columna líquida predeterminada se mantiene en las celdas 25 que se han llenado primero.

La transferencia del líquido de la estructura matricial 24 a un área de ensayo 5 adyacente a la estructura 24 tiene lugar por el lado abierto de los resaltes (lado de transferencia 28) de la estructura matricial 24, donde las celdas 25 tienen unos orificios 33 por los que sale el líquido.

Las figuras 5c y 5d (representación de un corte) muestran otra forma de ejecución de una estructura matricial 24 cuyas celdas 25 están configuradas preferiblemente de manera que las cavidades 26 se ensanchan hacia el lado de transferencia 28. Las cavidades 26 de las celdas se ensanchan preferiblemente de forma continua. La estructura matricial 24 está abierta por su lado superior (lado de entrada de líquido 29) para que un líquido pueda penetrar en cada celda 25. Por el lado inferior (lado de transferencia 28) las celdas 25 tienen unos orificios 33 para transferir el líquido a una capa de ensayo adyacente. Las celdas individuales 25 están mutuamente en contacto fluido mediante los pasos de líquido 27, con lo cual el líquido se reparte sobre varias celdas 25.

En una forma de ejecución preferida las celdas 25 tienen entre 20 μm y 150 μm de altura. La altura de la celda está comprendida ventajosamente entre 30 μm y 100 μm . Con especial preferencia es de al menos 50 μm . Estas alturas de las celdas también permiten analizar pequeños volúmenes de líquido, de 50 nl como máximo. La capa difusora (estructura matricial 24) según la figura 5c tiene un tamaño de 320 μm x 400 μm , calculado con 80 celdas 25 de sección cuadrada. Las celdas 25 tienen respectivamente un borde de 40 μm de lado y 60 μm de altura. Por tanto cada celda 25 tiene un volumen bruto de 0,096 nl. El volumen total de la estructura matricial 24 es de unos 7,7 nl. Como la capa difusora tiene un volumen efectivo de absorción de líquido aproximadamente igual al 60% del volumen total, puede absorber un volumen de unos 4,5 nl. El líquido se reparte sobre una serie de celdas 25 (preferiblemente por todas las celdas 25) con una columna líquida suficiente (de al menos 50 μm) por encima de la capa de ensayo adyacente y por tanto la medición óptica es independiente de la cantidad de líquido.

En una forma de ejecución preferida la estructura matricial 24 posee al menos 20 celdas 25, preferiblemente al menos 25 celdas 25 y sobre todo al menos 50 celdas 25. También se prefiere una forma de ejecución en la cual la estructura matricial 24 posee al menos 100 celdas 25.

El gran número de celdas 25 con paredes delgadas, que en comparación con las medidas de las celdas 25 son muy pequeñas (grosor de pared de celda inferior a 10 μm), permite realizar una valoración estadística de una medición óptica de la estructura matricial 24. Como en los puntos de intersección de las paredes de las celdas 25 no hay suficiente humectación o cobertura de la estructura matricial 24 con líquido, en estos sitios no se puede realizar una valoración óptica. Solo la distribución a una serie de celdas 25, formando una columna líquida suficiente, garantiza la integración de bastantes celdas 25, con sus respectivos volúmenes de líquido, en la medición óptica. Si el número de celdas 25 es suficientemente alto (al menos 20, preferiblemente al menos 50), la influencia de las paredes de las celdas y de los puntos de intersección se puede eliminar mediante una valoración estadística.

Las figuras 6a hasta 6c representan un elemento de ensayo 3 según la presente invención, con un elemento de

punción 4 y un área de ensayo 5. La figura 6a representa el elemento de ensayo 3 con área de ensayo 5 (abajo) y sin ella (arriba). El elemento de punción 4 es una lanceta 40 cuya parte plana 41 se estrecha hacia un extremo en forma de punta 42. Una estructura capilar 44 comprende un canal capilar 43 y una estructura celular con efecto de capilaridad, p.ej. una estructura matricial 24 o una estructura de celdas. El canal capilar 43 se extiende desde la punta 42, en la dirección del cuerpo de la lanceta, hasta una zona de transferencia de líquido 35 donde se halla una estructura matricial 24 que forma parte de la estructura capilar 44. En la figura 6c el canal capilar 43 se extiende también más allá de la zona de transferencia de líquido 35. Junto a la estructura matricial 24 se encuentra un área de ensayo 5, que consta de una capa soporte 45 y una capa de ensayo 47. El área de ensayo 5 no tiene ninguna estructura propia de retención de líquido.

Gracias a la homogénea distribución óptica de un líquido, el elemento de ensayo 3 sirve especialmente para una medición fotométrica de una magnitud característica. La capa soporte 45 es transparente y por lo tanto el área de ensayo 5 puede ser registrada y valorada ópticamente por una óptica 8a (véase fig. 6c). Como la estructura matricial 24 difunde el líquido, para la medición fotométrica se puede emplear un aparato óptico convencional y económico, enfocado por ejemplo a 50 µm. Las tolerancias de fabricación y posición que repercuten en la situación relativa entre la óptica 8a y su área iluminada 51 no influyen, porque son mayores que el área iluminada 51 (campo de valoración óptica).

La figura 6c muestra una forma de ejecución del elemento de ensayo 3 en el cual el área de ensayo 45 se halla en el lado de la lanceta 40 opuesto al canal capilar 43. La estructura matricial 24 es paralela al canal capilar 43 en la zona de transferencia de líquido 35 que no está directamente al final del canal capilar 43. En cambio, en el ejemplo de la figura 6b la estructura matricial 24 está situada al final del canal capilar 43. En ambos casos la estructura matricial 24 forma una sola pieza con la lanceta 40 y se elabora por tratamiento corrosivo en la misma etapa de proceso que la lanceta 40.

Las figuras 7a y 7b muestran el elemento de ensayo 3 de la figura 6a, con el elemento de punción 4 (lanceta 40) y el área de ensayo 5, diseñado en forma de "lanceta sobre cinta". La capa soporte 45 del área de ensayo 5 es una cinta laminar 48 sobre la cual están colocados varios elementos de ensayo 3 a una distancia prefijada. Los elementos de ensayo 3 están pegados al lado inferior de la cinta laminar transparente 48. La superficie de la unión se encuentra ventajosamente junto al área de ensayo 46. Las sustancias adhesivas también pueden estar integradas en la capa de ensayo 47.

La figura 7b muestra un corte a través del elemento de ensayo 3 situado sobre la cinta laminar 48, la cual constituye la capa soporte del área de ensayo 5. La lanceta 40 está en contacto con el área de ensayo en un plano 46, de manera que el lado de entrada de líquido 29 limita con el lado de transferencia 28 de la estructura matricial 24. La lanceta 40 está unida a la cinta laminar 48 solo por la capa de ensayo 47, pero alternativamente también mediante una superficie adhesiva. Entre la lanceta 40 (con su canal capilar 43) y la cinta laminar 48 se forma un espacio libre 49 en el que puede acumularse líquido corporal sobrante.

Como la mayor parte del cuerpo 41 de la lanceta - sobre todo su zona estrecha con el canal capilar 43 y la punta - no está sujeta a la cinta laminar 48, para pinchar una parte del cuerpo, la cinta laminar 48 se puede doblar o curvar (hacia abajo) respecto a la lanceta 40, de tal manera que la punta 42 pueda efectuar el pinchazo, sin que la cinta laminar 48 sea un estorbo.

Para mantener su esterilidad durante el almacenamiento, cada elemento de ensayo 3 puede ir cubierto sobre la cinta laminar 48 por un film protector estéril 50 que se puede tender sobre zonas parciales o sobre la totalidad de la cinta laminar 48. La cinta laminar 48 con múltiples elementos de ensayo 3 se puede alojar en un cargador o en un casete, sobre todo enrollado en un casete. Aunque el radio del rollo sea pequeño, una estructura de retención de líquido (estructura matricial 24) no se despega del área de ensayo 5.

La figura 8 representa esquemáticamente una instalación 60 para elaborar un elemento de punción 4 de la presente invención, con un canal capilar 15 y una estructura capilar 13, tal como se ha descrito arriba. Con la instalación 60 se puede elaborar en un proceso continuo de producción en masa una serie de elementos de punción 4 sobre una cinta metálica. En una desbobinadora 61 hay un rollo de cinta metálica delgada que una vez desenrollada se limpia en una unidad de lavado 62. En una unidad de recubrimiento 63 se aplica sobre la cinta metálica, preferiblemente por ambas caras, una capa sensible a la luz, por ejemplo una laca fotosensible líquida o sólida. En una unidad de impresión 64 se aplica sobre la cinta metálica una máscara con la forma del contorno del elemento de punción que se quiere obtener. Por último se expone la cinta metálica. En otra unidad 65 se revela la cinta metálica recubierta y expuesta.

Las zonas tapadas por la máscara se enjuagan hasta quedar libres. En la etapa siguiente del proceso las superficies no cubiertas se someten en una unidad 66 a un tratamiento corrosivo superficial, de grabado o eliminación. Aquí se forma, como mínimo, el elemento de punción 4 con la punta y el canal capilar 15.

A continuación en una unidad de decapado 67 se elimina el recubrimiento resistente al tratamiento corrosivo y se limpia la cinta metálica. Después de secarla en un secador 68 la cinta se enrolla de nuevo en una bobina 69. Como

alternativa los elementos de punción 4 individuales también se pueden separar de la cinta. Como alternativa la cinta metálica con los elementos de punción también se puede unir con una lámina soporte o una cinta laminar que forme la capa soporte de los elementos de ensayo y con una capa de ensayo aplicada encima, a fin de obtener una cinta con elementos de ensayo, según la presente invención, que se pueda individualizar y/o alojar en un cargador en una etapa adicional del proceso.

5

En una forma de ejecución preferida del proceso de elaboración, en la unidad de tratamiento corrosivo 66 no solo se produce el canal capilar 15 y el contorno del elemento de punción 4, sino también la estructura matricial plana 24 en la misma etapa del tratamiento. El tratamiento fotométrico de corrosión fina permite elaborar la estructura matricial 24 con una serie de celdas 25 cuyo mayor tamaño está comprendido entre 30 μm y 100 μm . La altura de las celdas, que corresponde al grosor de la cinta metálica, está comprendida entre 45 μm y 100 μm .

10

En una forma de ejecución igualmente preferida del proceso de elaboración, la estructura matricial bidimensional 24 se puede producir mediante un tratamiento con láser, posterior al tratamiento corrosivo mediante el cual se genera el elemento de punción 4 con el canal capilar 15. A tal fin se emplea una unidad láser, por ejemplo un láser excimer.

15

La unidad láser está situada preferentemente en las posiciones B y C de la figura 8. La colocación en la posición C tiene la ventaja de que los distintos tratamientos de corrosión y láser quedan separados. Se evita cualquier influencia del medio corrosivo en la estructura producida con láser. Como la cinta metálica con los elementos de punción se trata con el láser una vez limpiada, no se generan humos de otro material, como p.ej. de la laca fotosensible.

20

En una forma de ejecución igualmente preferida, el corte con láser se realiza antes del tratamiento corrosivo. Las posiciones preferidas de la unidad láser son las indicadas en la figura 8 como D y E. Durante el tratamiento corrosivo se desbarba la estructura generada con láser.

25

Como alternativa la unidad láser puede estar situada en la posición A de la figura 8. Entonces el tratamiento con el láser se efectúa entre dos tratamientos corrosivos, especialmente antes del último tratamiento corrosivo. En esta posición de la unidad láser las estructuras generadas por láser se desbarban mediante a la breve acción del medio corrosivo, sin que dichas estructuras resulten alteradas o falseadas.

30

REIVINDICACIONES

1. Elemento de ensayo para pinchar en una parte del cuerpo, a fin de extraer del mismo una muestra de líquido corporal y analizarlo mediante un sistema reactivo cuya reacción con un analito contenido en el líquido corporal produce una variación de una magnitud característica del resultado analítico deseado, que se puede medir en el elemento de ensayo óptico,
 5 el cual comprende un elemento de punción (4) y un área de ensayo (5) que contiene al menos una parte del sistema reactivo, de modo que
 el elemento de punción (4) presenta en uno de sus extremos una punta para pinchar en la parte del cuerpo y una
 10 estructura capilar (13, 44) configurada de manera que tras el pinchazo de la punta del elemento de punción en la piel afluya líquido corporal a la estructura capilar (13, 44),
 el elemento de punción (4) y el área de ensayo (5) pueden situarse mutuamente en una posición de transferencia para poner en contacto fluido el área de ensayo con una parte de la estructura capilar del elemento de punción, a fin de que el líquido corporal infiltrado en la estructura capilar pueda pasar al área de ensayo,
 15 el área de ensayo (5) comprende una capa soporte transparente, no porosa (45, 100) y una capa de ensayo (101) aplicada sobre la capa soporte (45, 100) en forma de un recubrimiento que no penetra en la capa soporte (45, 100), de manera que el lado de la capa de ensayo (101) opuesto a la capa soporte (45, 100) forma el lado de entrada de líquido (104) que en la posición de transferencia está dirigido a la estructura capilar (13), y
 en la posición de transferencia de líquido, el lado de entrada de líquido (104) de la capa de ensayo (101) limita directamente con la estructura capilar (13, 44) de manera que tiene lugar un paso directo de líquido de la estructura capilar (13, 44) a la capa de ensayo (101).
2. Elemento de ensayo según la reivindicación anterior, caracterizado porque el área de ensayo está fijada al elemento de punción de manera que el elemento de punción y el área de ensayo están en permanente contacto fluido.
 25
3. Elemento de ensayo según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la capa de ensayo (101) comprende dos capas parciales, la primera de las cuales es una capa reactiva (102) aplicada en forma de recubrimiento sobre la capa soporte y la segunda es una capa opaca de barrera a la luz (103) superpuesta a la primera.
 30
4. Elemento de ensayo según la reivindicación 3, caracterizado porque tanto la capa reactiva (102) como la capa de barrera a la luz (103) contienen un enzima y un reactivo cromógeno (indicador), de manera que la cantidad de enzima en la capa reactiva (102) es mayor que en la capa de barrera a la luz (103) y la cantidad de indicador en la capa reactiva (102) es menor que en la capa de barrera a la luz (103).
 35
5. Elemento de ensayo según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque al menos una parte del sistema reactivo, preferiblemente un enzima, está unido a otro componente de la capa de ensayo (101), sobre todo a una carga contenida en la capa de ensayo (101).
 40
6. Elemento de ensayo según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la estructura capilar (13, 44) comprende una estructura matricial bidimensional (24) que tiene una serie de celdas (25) con cavidades (26) y un canal capilar por el cual se transporta líquido corporal hacia la estructura matricial bidimensional, después del pinchazo en la piel con la punta del elemento de punción (4), de forma que
 45 – la mayor dimensión de las cavidades (26) de la estructura matricial bidimensional es menor que la anchura media del canal capilar (13, 44),
 – las cavidades (26) tienen una altura definida, perpendicular a la extensión bidimensional de la estructura matricial (24), que garantiza el valor mínimo del grosor de la capa líquida y
 50 – las celdas (25) están abiertas por un lado de transferencia (28) de la estructura matricial (24) adyacente al lado de entrada de líquido del área de ensayo (5).
7. Elemento de ensayo según la reivindicación 6, caracterizado porque la estructura matricial bidimensional (24) es paralela y contigua a un segmento longitudinal del canal capilar (15, 43) y las celdas (25) de la estructura matricial (24) tienen unas aberturas (33) por un lado de entrada de líquido (29) dirigido al canal capilar (15, 43) y opuesto al lado de transferencia (28), de manera que el líquido penetra en las cavidades (26) de las celdas de la estructura matricial (24) a través de estas aberturas (33).
 55
8. Elemento de ensayo según una de las reivindicaciones 6 o 7, caracterizado porque la estructura matricial (24) comprende al menos 20, preferiblemente al menos 25, con especial preferencia al menos 50 y sobre todo al menos 100 celdas (25).
 60
9. Elemento de ensayo según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el grosor de la capa de ensayo es como máximo de 20 μm .
10. Elemento de ensayo según una de las reivindicaciones 6 a 9, caracterizado porque la estructura matricial (24) forma una sola pieza con el elemento de punción (4).
 65

11. Elemento de ensayo según una de las reivindicaciones 6 a 10, caracterizado porque las cavidades (26) de la estructura matricial (24) se ensanchan hacia el lado de transferencia (28), preferiblemente de forma continua.
- 5 12. Elemento de ensayo según una de las reivindicaciones 6 a 11, caracterizado porque el canal capilar (15, 43) y la estructura matricial (24) están elaborados en una etapa única de proceso por tratamiento corrosivo o mediante tratamiento corrosivo y corte por rayo láser.
- 10 13. Sistema para analizar un líquido corporal procedente de una parte del cuerpo, que comprende un elemento de ensayo según una de las reivindicaciones anteriores y un aparato de análisis (2) con
- una carcasa (6),
 - un mecanismo (7) para acoplar el elemento de ensayo (4) a un mecanismo de accionamiento del aparato de análisis, con el fin de impulsarlo en la dirección de un movimiento de punción, y
 - una unidad de medición y evaluación (8) para medir una variación de un reactivo que reacciona con el líquido corporal, a fin de analizar un analito contenido en el líquido corporal.
- 15

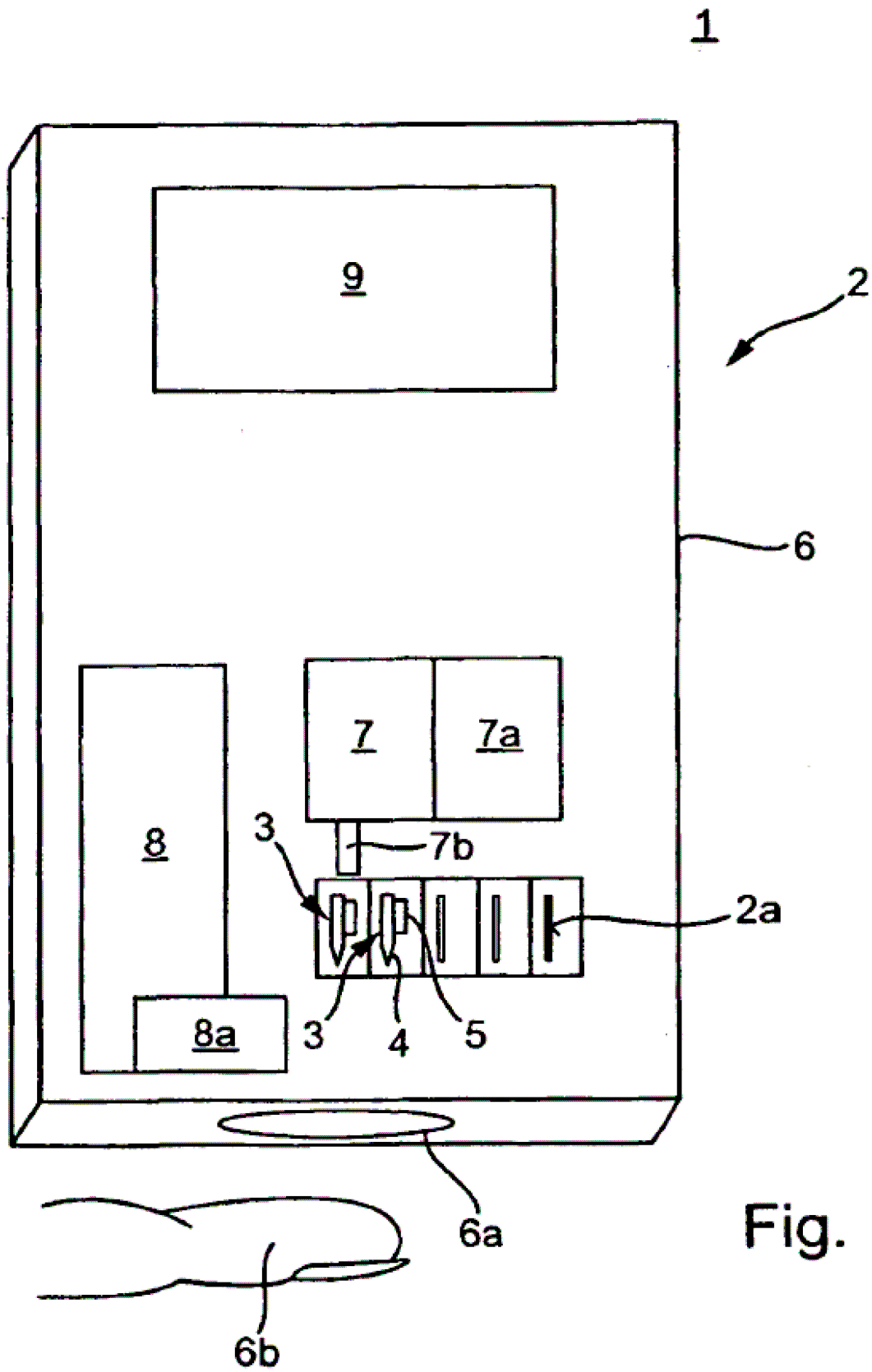


Fig. 1

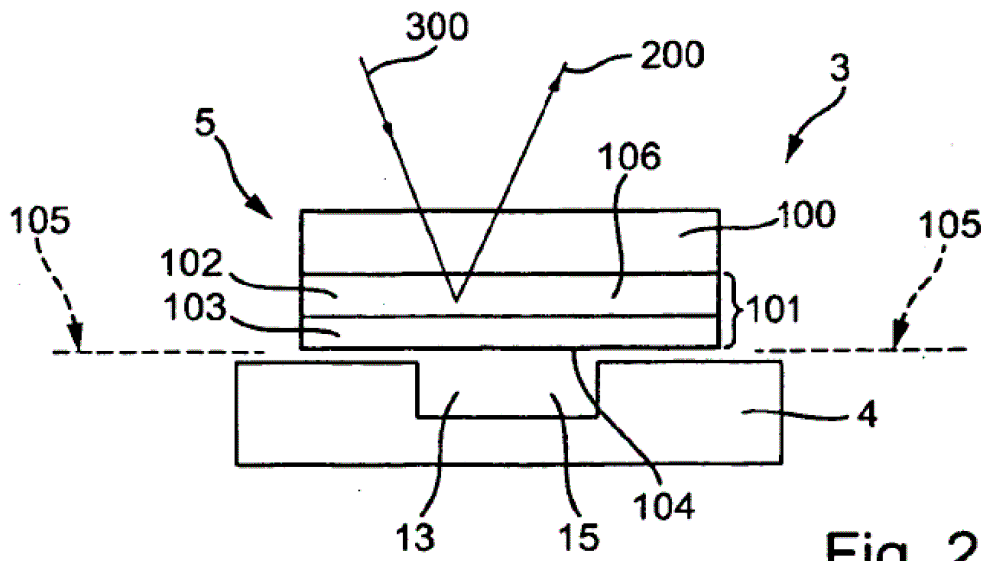


Fig. 2

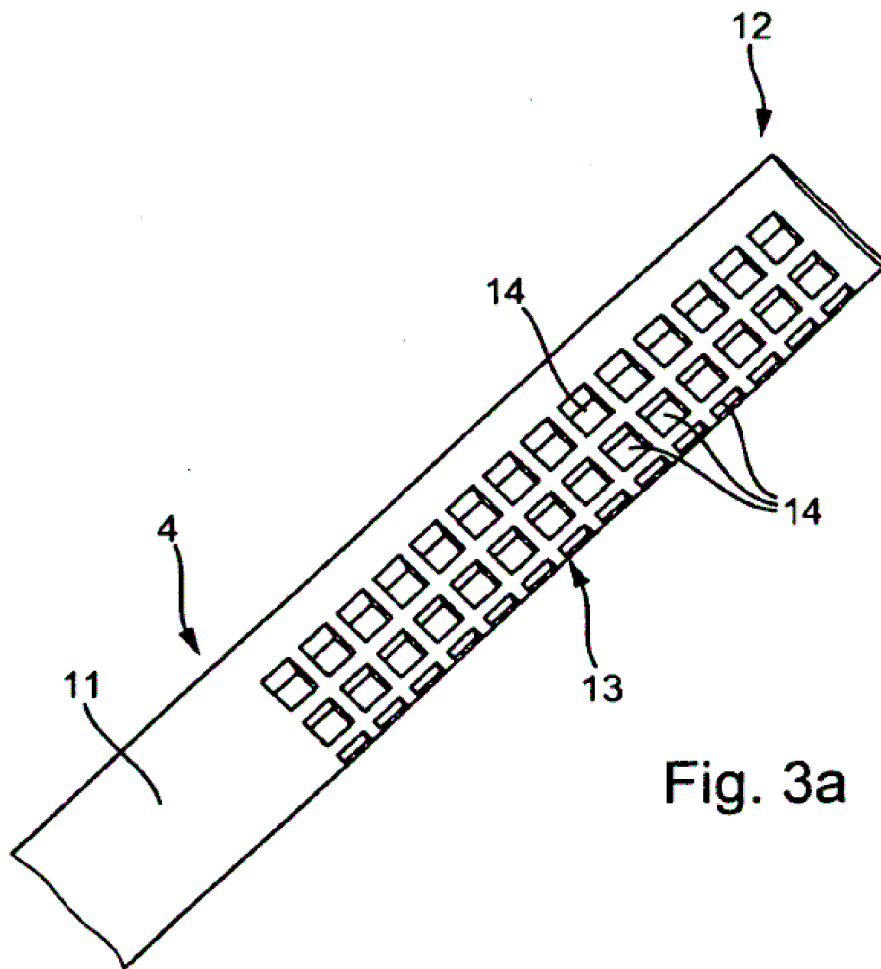


Fig. 3a

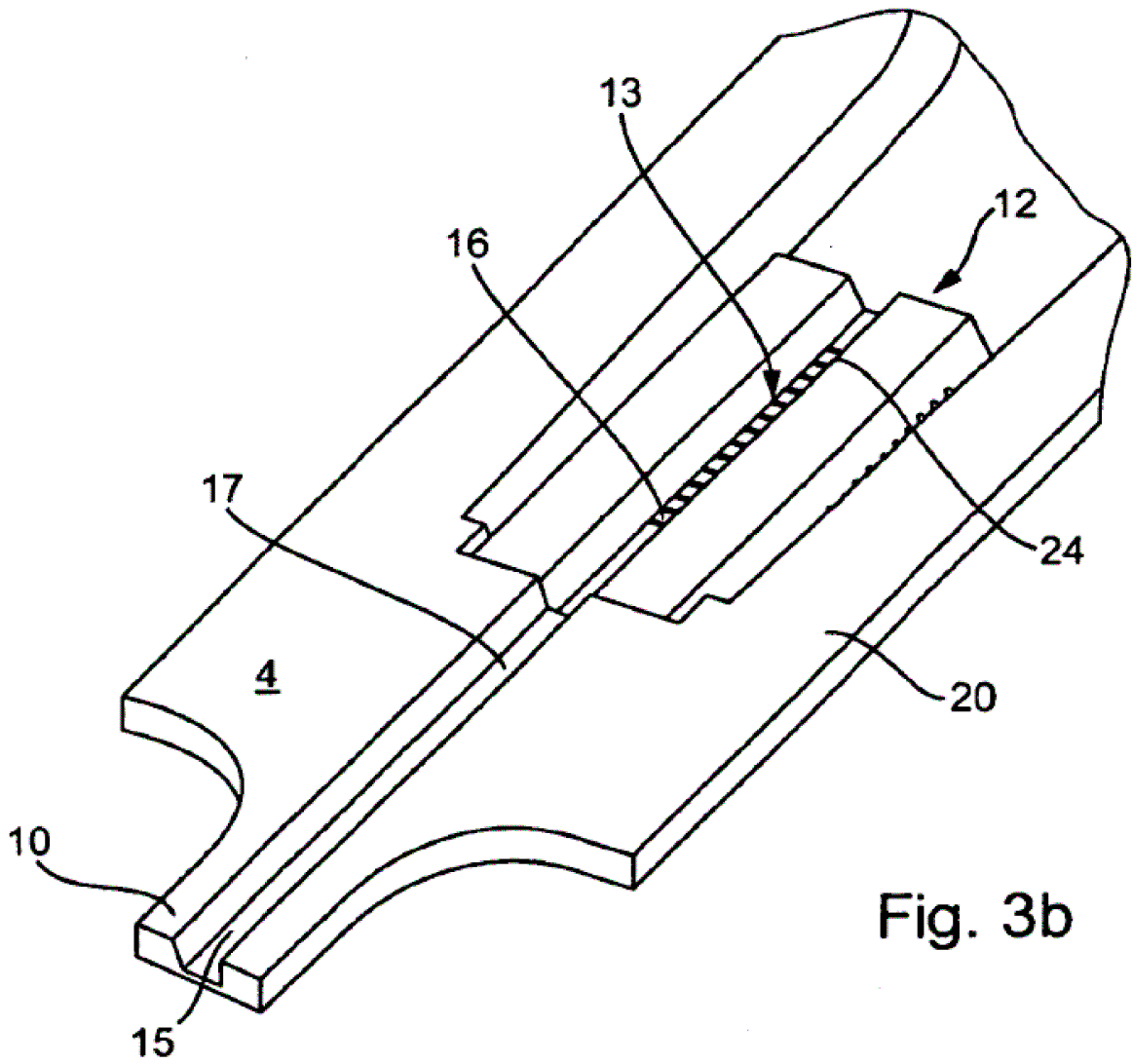


Fig. 3b

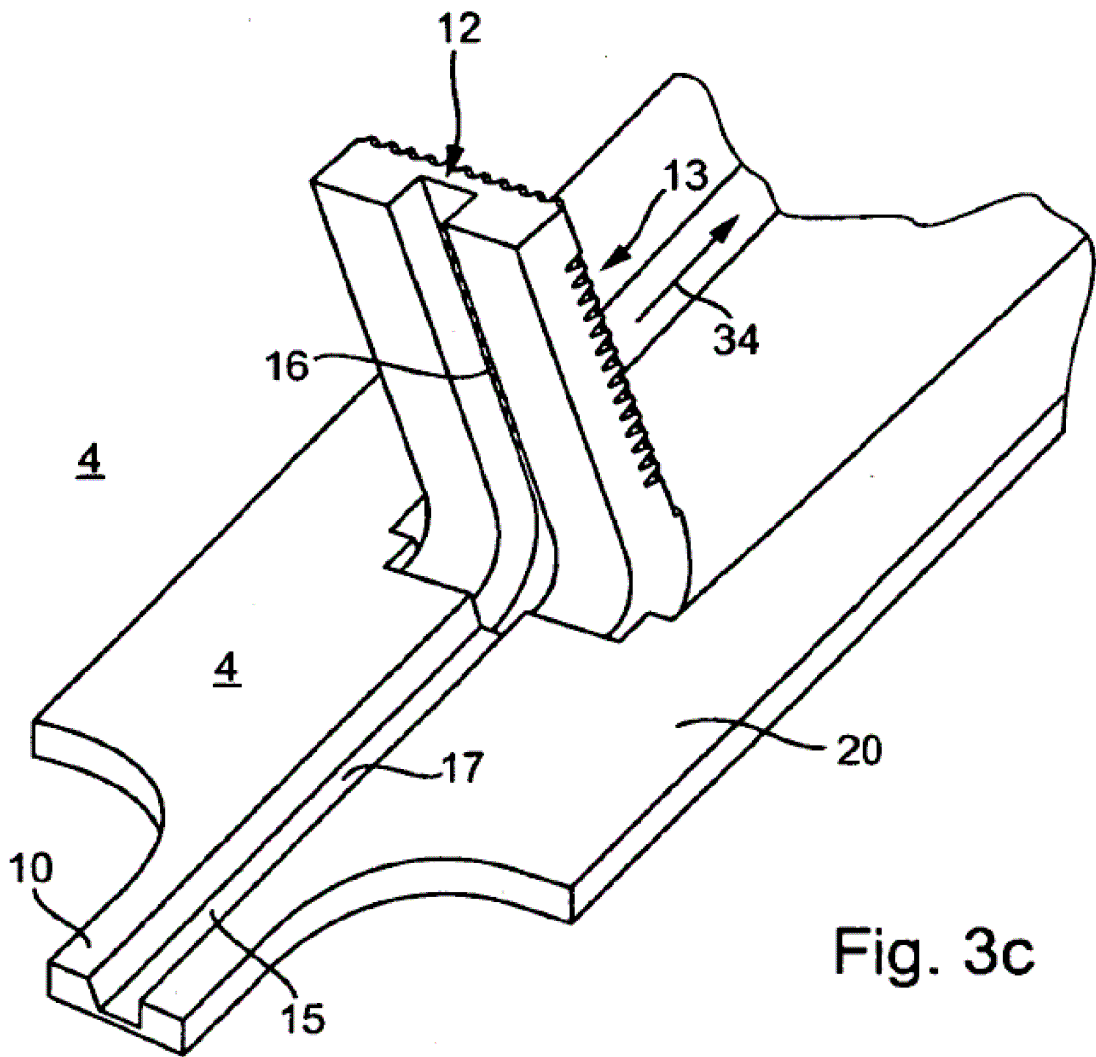


Fig. 3c

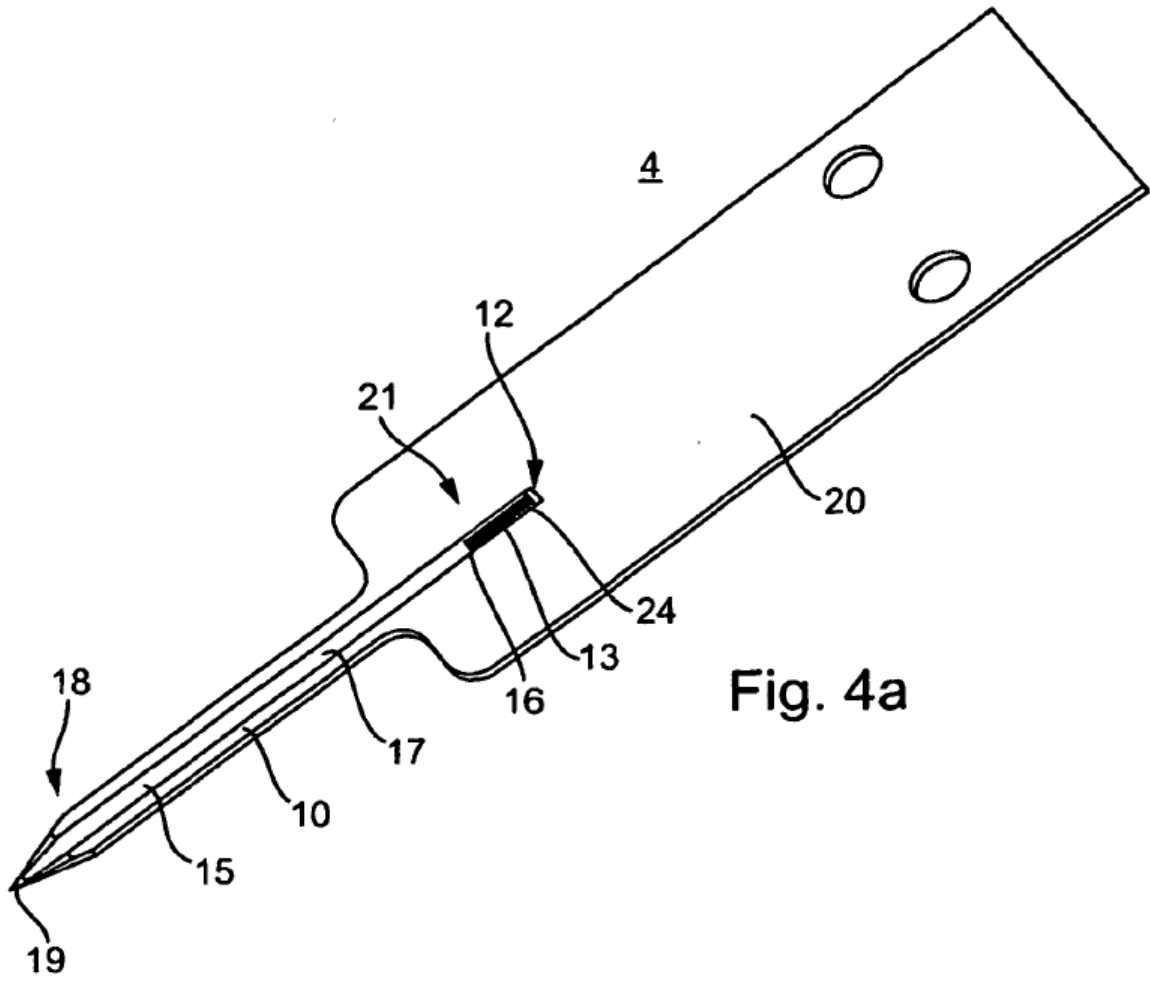


Fig. 4a

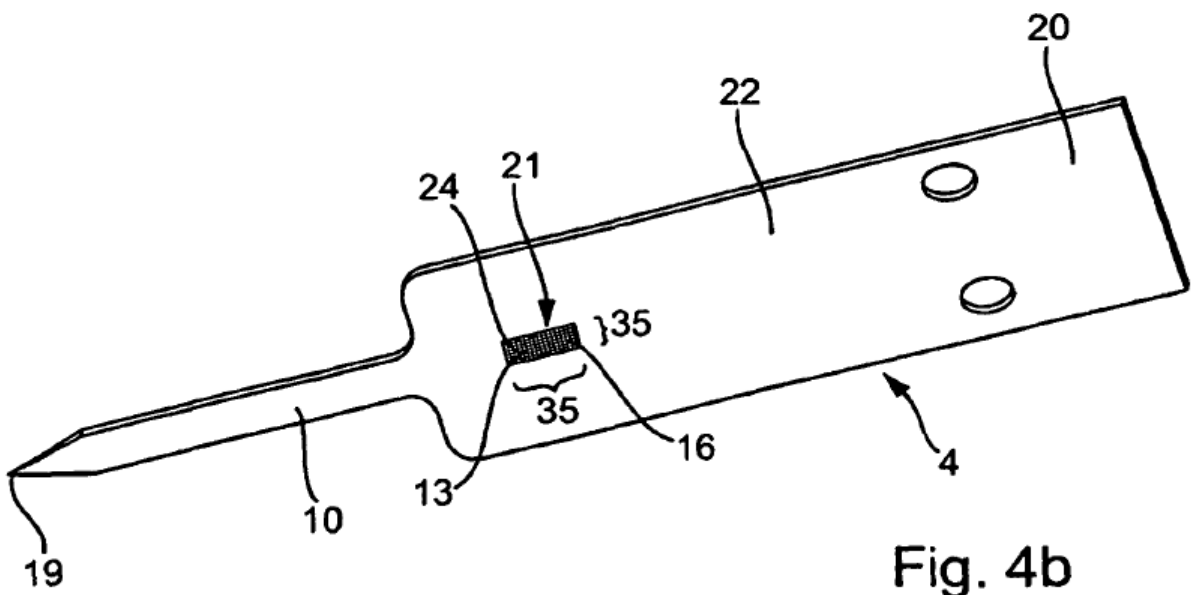


Fig. 4b

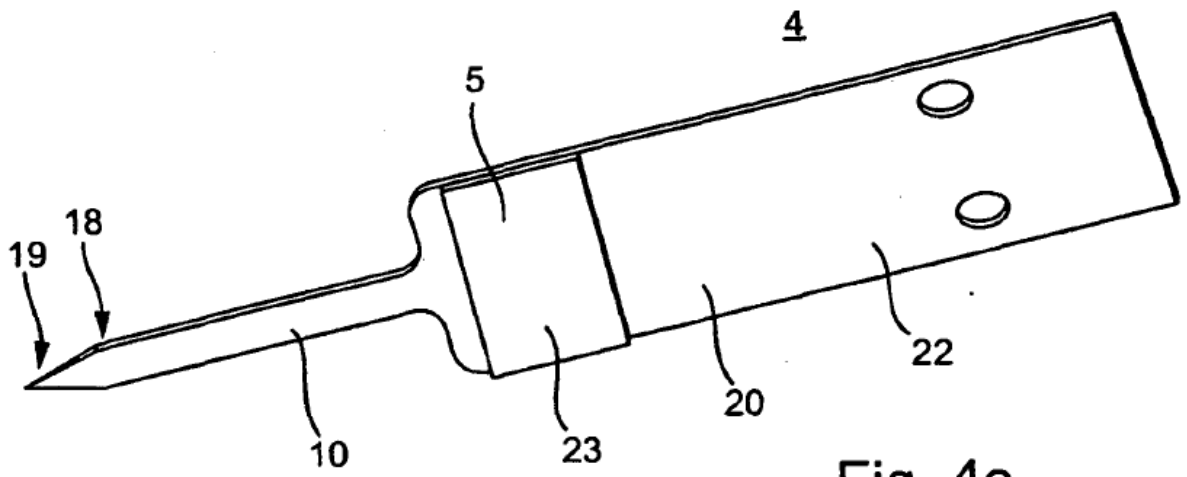


Fig. 4c

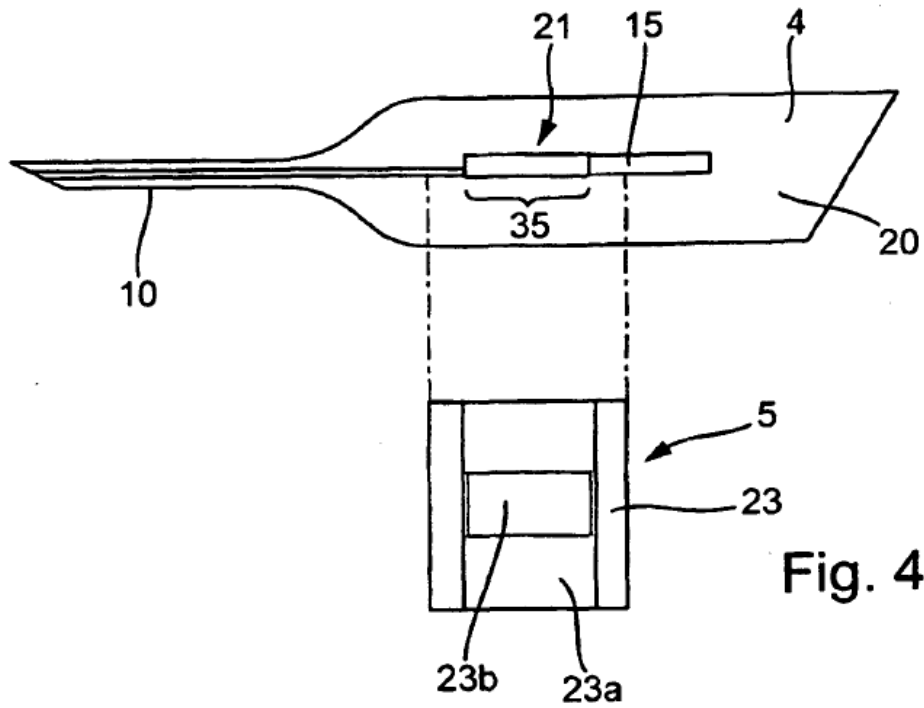


Fig. 4d

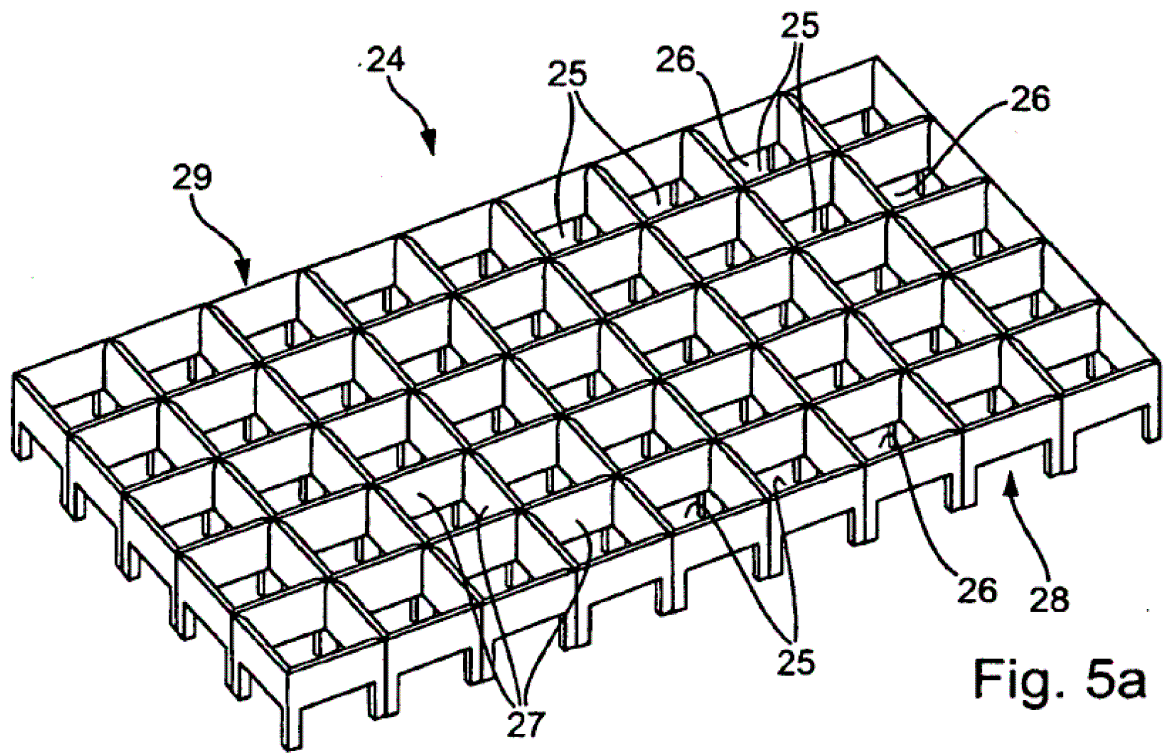


Fig. 5a

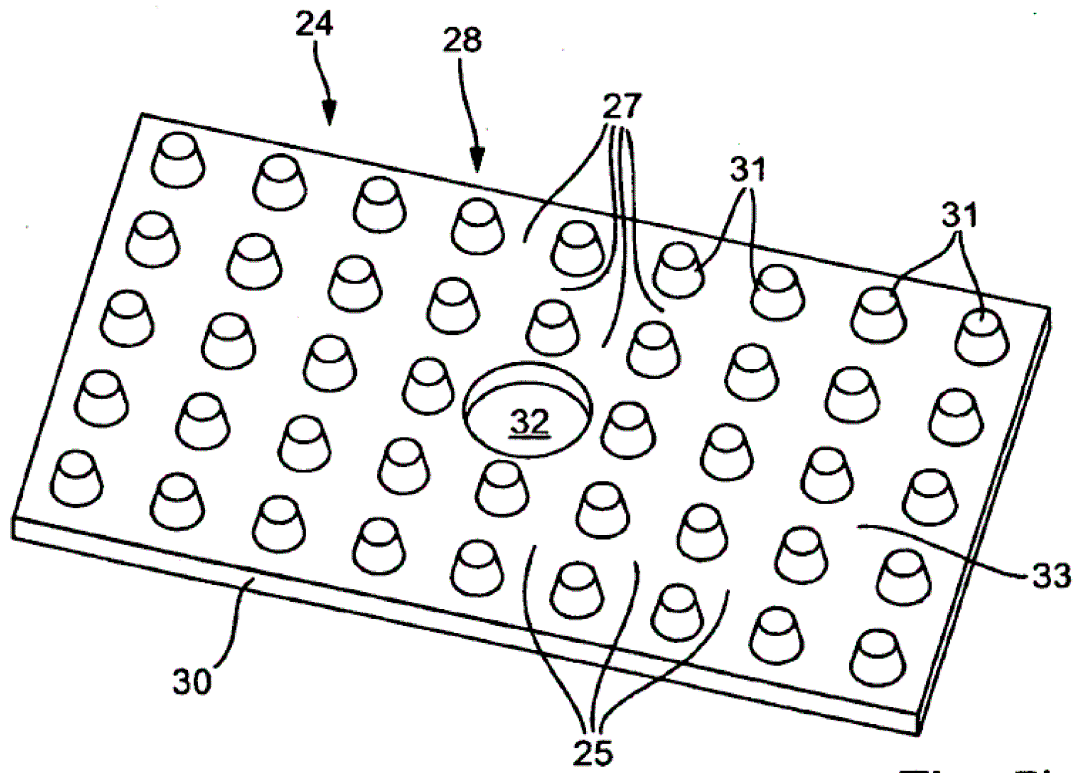


Fig. 5b

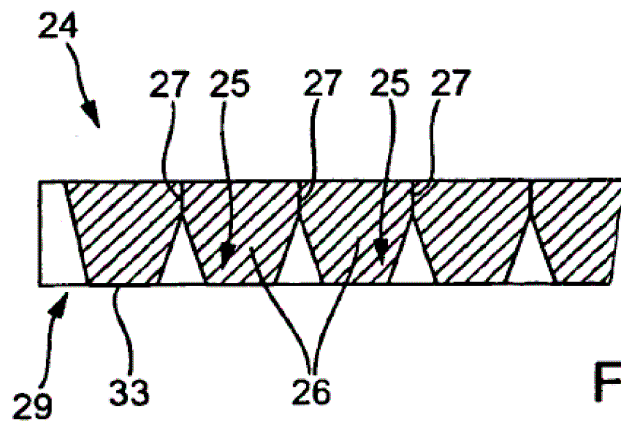


Fig. 5d

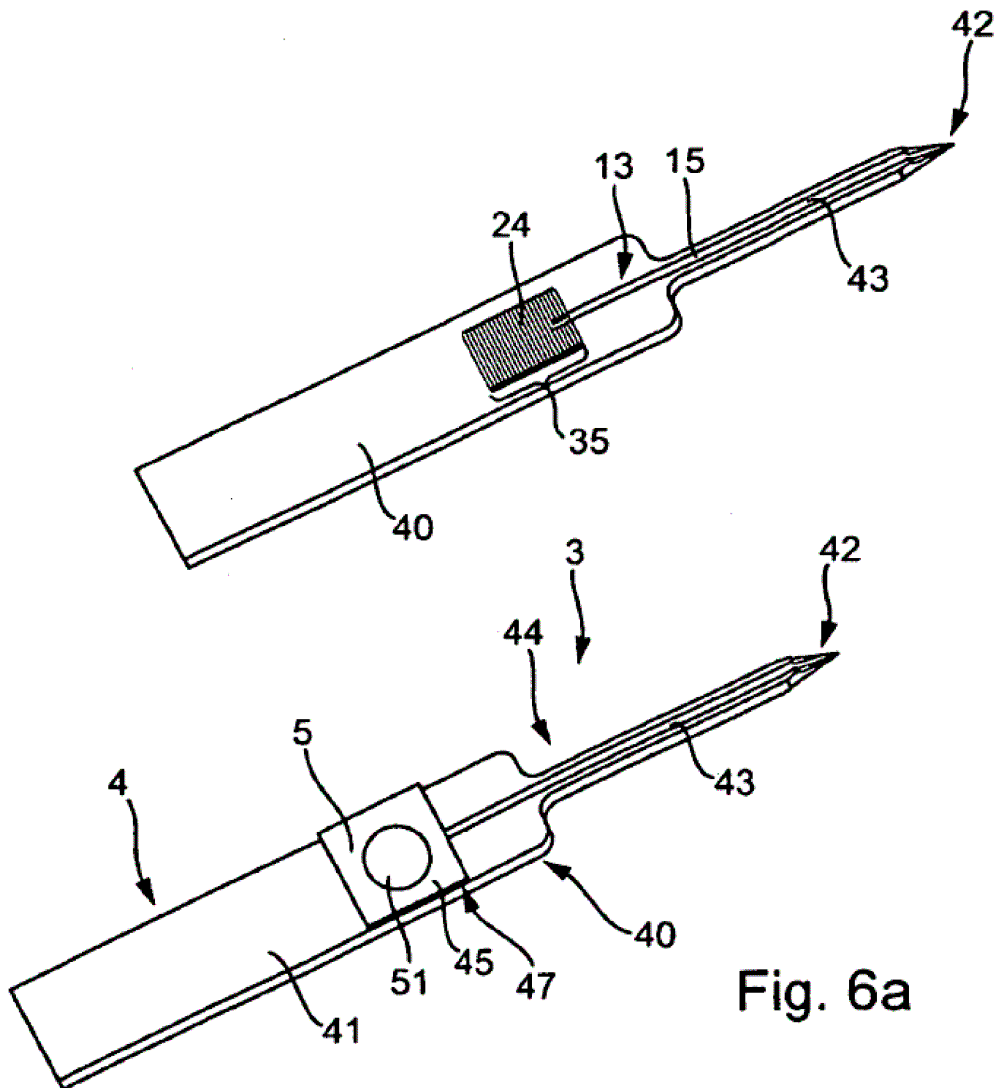


Fig. 6a

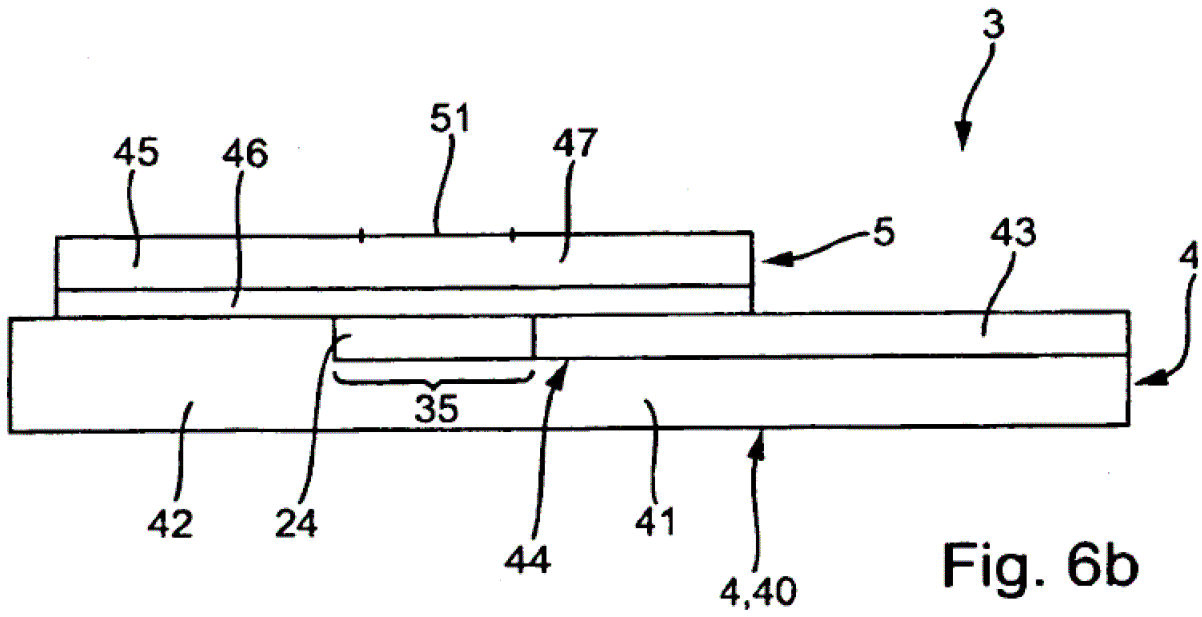


Fig. 6b

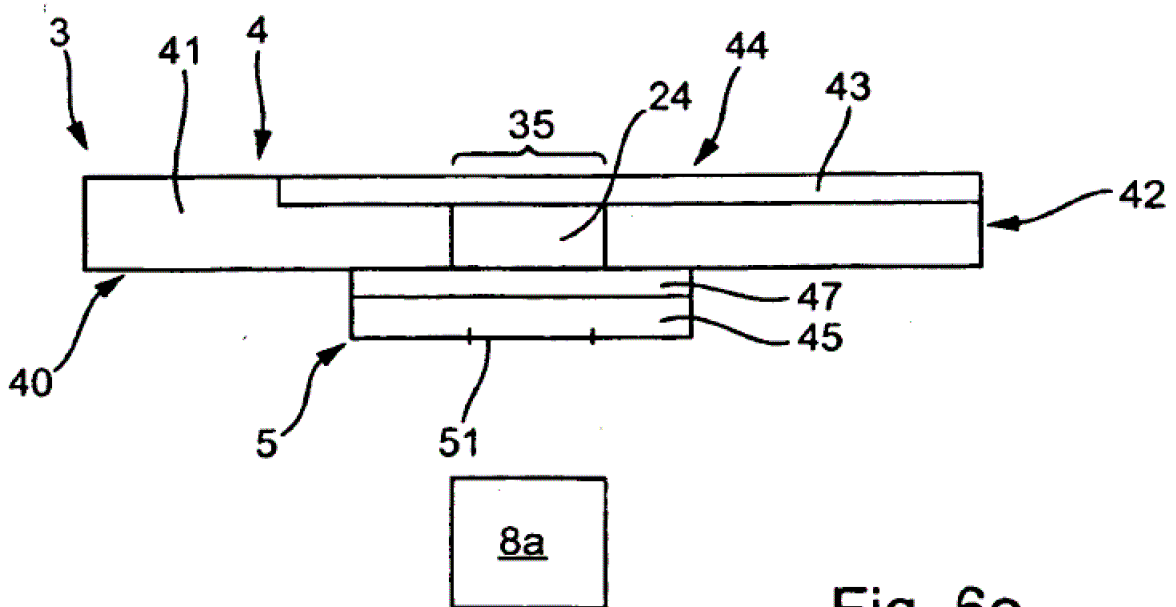


Fig. 6c

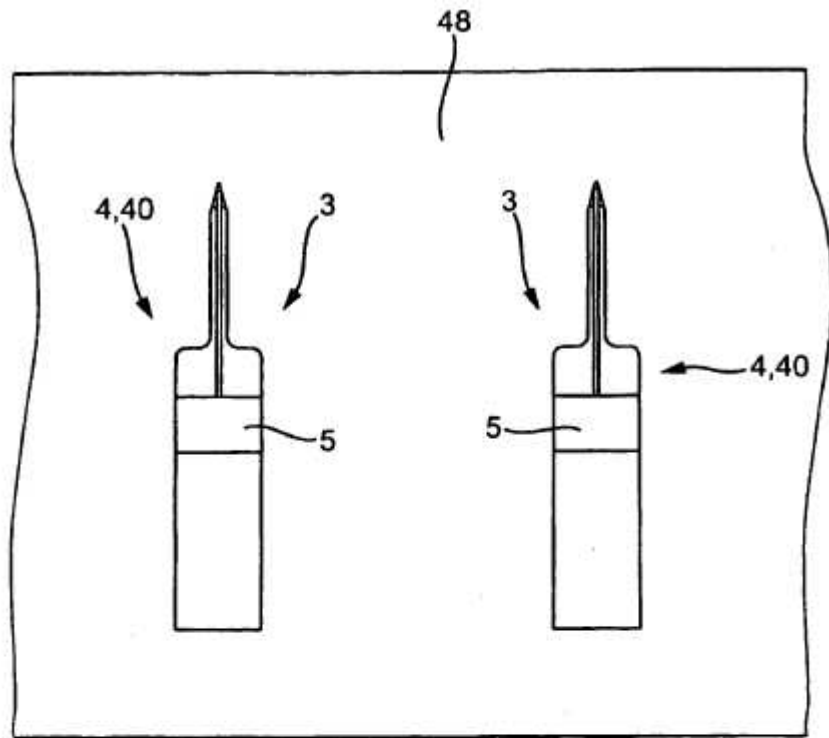


Fig. 7a

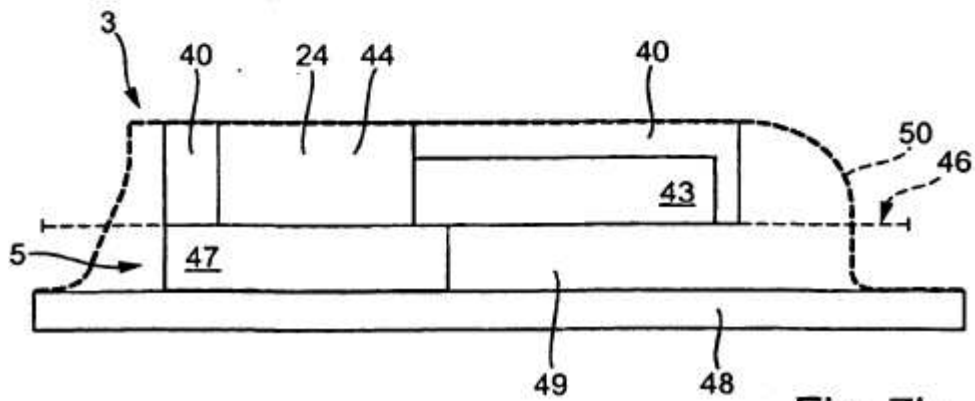


Fig. 7b

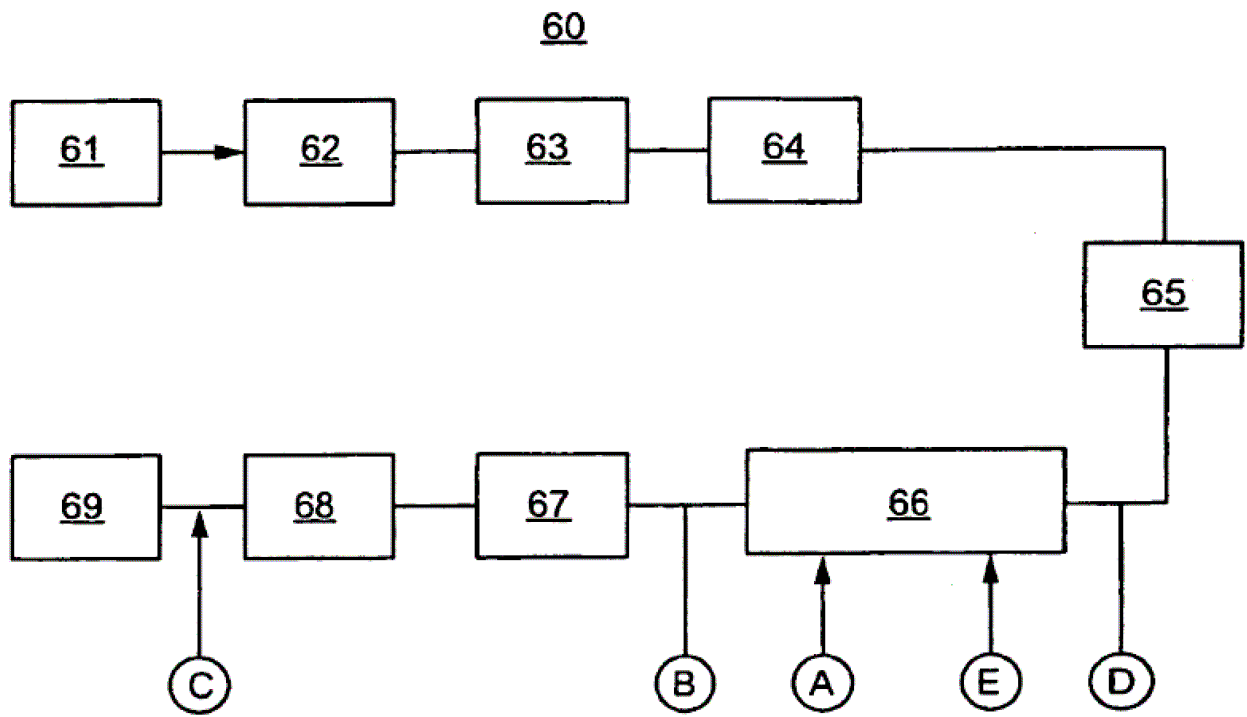


Fig. 8