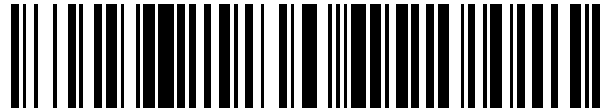


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 473 620**

51 Int. Cl.:

A61M 37/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2008 E 08704452 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.05.2014 EP 2119469**

54 Título: **Dispositivo de microagujas para el diagnóstico de una alergia**

30 Prioridad:

06.02.2007 JP 2007026650

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

07.07.2014

73 Titular/es:

**HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC.
(100.0%)
408, TASHIRODAIKAN-MACHI TOSU-SHI
SAGA 841-0017, JP**

72 Inventor/es:

**TOKUMOTO, SEIJI;
MATSUDO, TOSHIYUKI y
KUWAHARA, TETSUJI**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 473 620 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo de microagujas para el diagnóstico de una alergia

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un dispositivo de microagujas para el diagnóstico de una alergia, para realizar un diagnóstico sencillo, rápido y claro de una alergia de la piel.

Antecedentes de la técnica

Normalmente, el sistema inmunológico ofrece protección contra las enfermedades y similares. Sin embargo, en algunos casos, la reacción inmunológica provoca una reacción maliciosa para el cuerpo. Esta se denomina alergia. La causa que desencadena la reacción se denomina alérgeno (antígeno).

10 En general, un ensayo de alergia de contacto incluye el denominado ensayo de parche. En dicho un ensayo de alergia de contacto, se usa una lámina para un ensayo de alergia de contacto, en la que se coloca un antígeno sobre la superficie de la lámina y la lámina puede ser aplicada a la piel de un sujeto. La lámina es aplicada a la piel del sujeto. Después de un cierto período de contacto, la lámina es separada de la piel. En base al cambio de color de la piel, se determinan macroscópicamente la presencia de alergia y el grado de alergia.

15 La expresión "ensayo de parche", usada en la presente memoria, se refiere a un procedimiento de diagnóstico que puede realizarse fácilmente sin causar sangrado ni dolor, independientemente de si se mancha o no la epidermis de la piel.

20 La piel se compone de la capa córnea más externa, la epidermis, la dermis y el tejido conectivo subcutáneo. La capa córnea se compone generalmente de una capa de células muertas y una bicapa lipídica actúa como una fuerte barrera contra muchas sustancias. En la capa de la epidermis, hay células presentadoras de antígeno denominadas células de Langerhans, que poseen una función inmune. Las células de Langerhans capturan antígenos de proteínas que penetran en la piel, degradan internamente los antígenos y presentan los fragmentos peptídicos a las moléculas del CMH. Los complejos CMH-peptido migran a la capa de corteza inferior de los ganglios linfáticos regionales a través de vénulas linfáticas aferentes, y entran en contacto con los linfocitos T a través de células interdigitantes. Los antígenos se transmiten desde la piel a los linfocitos T_H que están presentes en los ganglios linfáticos por la migración de las células de Langerhans. Las células de Langerhans tienen moléculas CMH de clase II que se requieren para la presentación de antígenos a los linfocitos T_H.

30 Debido a la fuerte función de barrera presentada por la capa córnea de la piel, el período de contacto debe ser suficientemente prolongado en un ensayo de parche. De esta manera, el período de contacto se establece generalmente en 48 horas. Además, en el ensayo de alergia de contacto convencional, el cambio de color de la piel se determina macroscópicamente. Por lo tanto, se requiere de aptitudes para realizar determinaciones apropiadas, y ha existido un problema con la exactitud de la determinación del grado de alergia.

35 Además, debido que generalmente los antígenos son sustancias de alto peso molecular, tales como proteínas, que tienen una mala capacidad de absorción, recientemente se han examinado formas de administración externas usando un aparato de iontoforesis y electroporación según se describe en el Documento de Patente 1 y el Documento de Patente 2 con el propósito de aumentar la permeabilidad de los antígenos. Sin embargo, no ha habido ningún caso de uso directo de dicho aparato en un ensayo de alergia de parche o un ensayo de alergia de contacto. Más específicamente, existe una tendencia a evitar el uso de un aparato de iontoforesis y electroporación en un ensayo de alergia de contacto por razones de conveniencia, simplicidad, rapidez y de irritación de la piel.

40 Sobre todo, recientemente, se han producido diversos avances en las microagujas y las técnicas de revestimiento asociadas con las mismas. El Documento de Patente 3 describe una interfaz equipada con microagujas, en la que el componente de perforación de la piel tiene un revestimiento, como un dispositivo para inocular una vacuna a través de la piel. Sin embargo, el documento no divulga ningún ejemplo de uso de la interfaz en un ensayo de alergia de contacto.

45 Con el propósito de resolver los problemas descritos anteriormente, tales como el contacto durante un largo periodo de tiempo en un ensayo de parche debido a la fuerte función de barrera de la capa córnea de la piel, y al cambio de color poco claro de la piel, es posible administrar directamente un antígeno por vía subcutánea con una aguja o una aguja de inyección. Sin embargo, es obvio que este procedimiento plantea problemas con relación a la molestia para un sujeto debido a los diversos anticuerpos que deben ser examinados, debido a la naturaleza del diagnóstico de la alergia.

50 Además, se ha formulado un ensayo de reacción de la piel en el diagnóstico de alergias a fármacos tales como antibióticos, diabetes, enfermedades infecciosas (tales como tuberculosis, hepatitis y VIH). Se ha confirmado que el ensayo de reacción de la piel es eficaz en el ensayo de punción o ensayo de administración intracutánea. El ensayo de

punción se refiere a un procedimiento en el que una aguja intradérmica es sujeta verticalmente con respecto a la piel, y se perfora la piel de manera que no se provoca sangrado, y es un procedimiento para el diagnóstico de alergias a fármacos de tipo inmediato. El procedimiento es más seguro que el ensayo de administración intradérmica. Sin embargo, la técnica es complicada y requiere mucho tiempo, y requiere también un gran dominio por parte de los profesionales sanitarios. Plantea también el riesgo de hemorragia dependiendo del grado de punción de la piel con la aguja. De esta manera, el procedimiento requiere especial precaución para aquellos pacientes que puedan estar infectados con enfermedades infecciosas. Además, en el ensayo de reacción intracutánea, los alérgenos se inyectan directamente por vía intracutánea. Por lo tanto, el procedimiento requiere una técnica de administración. Además, otro problema del procedimiento es el dolor, el sangrado y la reacción exagerada. De hecho, el ensayo de reacción intradérmica a antibióticos ha sido abolido.

Por ejemplo, el Documento de Patente 4 divulga una tira de ensayo que tiene una o múltiples agujas sobresalientes, capaces de perforar la piel en un cierto grado, en las que las sustancias alérgicas se aplican o adhieren a una parte de la superficie adhesiva de un trozo de tira adhesiva. La longitud de las lancetas está comprendida en el intervalo de 0,762 mm a 1,524 mm, lo que sugiere claramente que pasan a través de la epidermis, donde hay presentes muchas células presentadoras de antígenos que poseen la función inmune, y administran las sustancias a la dermis. Siguen existiendo muchos problemas con el procedimiento, al igual que el ensayo de punción, en términos de molestias para un sujeto, debido al dolor y el diagnóstico eficaz de las alergias.

Documento de Patente 1: Patente Japonesa Nº 2506543

Documento de Patente 2: Patente Japonesa expuesta al público Nº 2002-535100

Documento de Patente 3: Patente Japonesa expuesta al público Nº 2004-528900

Documento de Patente 4: Patente Japonesa expuesta al público Nº 58-131919

Además, el documento WO 03/051284 A2 divulga un microrraspador para administrar una sustancia a la piel, en el que dicho microrraspador comprende una superficie abrasiva, en el que dicha superficie abrasiva comprende microprotuberancias troncocónicas o troncopiramidales que comprenden al menos un borde de raspado y que sobresalen de dicha superficie de abrasión, y una cantidad eficaz de dicha sustancia.

Divulgación de la invención

Problemas a resolver por la invención

Tal como se ha descrito anteriormente, en general, el ensayo de parche convencional requiere 48 horas. El ensayo de punción cutánea y el ensayo de administración intracutánea no son procedimientos de diagnóstico simples y seguros, y muchos de ellos generan un cambio de color de piel poco claro. Además, frecuentemente se ha usado metal como el material para las microagujas, tal como divulga el Documento de Patente 3. Sin embargo, en muchos casos, el propio metal sirve como un antígeno en el diagnóstico de alergias, lo que presenta el problema de la dificultad de proporcionar un diagnóstico preciso. Además, puede usarse un material metálico que es probable que no sirva como un alérgeno, tal como titanio. Sin embargo, dicho material es caro y, de esta manera, su uso es poco práctico para el diagnóstico. Ha habido una demanda de microagujas más baratas. Además, la longitud de las lancetas divulgadas en el Documento de Patente 4 está comprendida en el intervalo de 0,762 mm a 1,524 mm, que es más largo que la de las microagujas. Esto ha conducido al problema de la incapacidad de proporcionar una determinación eficiente y a causar dolor y sangrado.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo de microagujas de bajo costo para el diagnóstico de una alergia, que permite la realización de un ensayo de piel claro con una operación simple durante un corto período de tiempo en el diagnóstico de alergias.

Medios para resolver los problemas

Los presentes inventores examinaron un procedimiento para la administración percutánea de alérgenos usando ratas que habían adquirido inmunidad. Como resultado, las ratas mostraron la reacción alérgica más fuerte usando microagujas y con la aplicación de un revestimiento sobre las microagujas. Además, los presentes inventores encontraron que el uso de un material de resina no metálico, sintético o natural, como el material de las microagujas permite la realización de un diagnóstico rápido y preciso. En base a estos hallazgos, los presentes inventores han conseguido la presente invención.

Específicamente, el objeto puede conseguirse mediante un dispositivo de microagujas según se divulga adicionalmente en la reivindicación 1 para el diagnóstico de una alergia, que comprende un sustrato, microagujas formadas sobre el sustrato a una densidad de entre 100 y 10.000 agujas por 1 cm², capaces de perforar la piel a una profundidad de 50 µm a 500 µm, y medios de retención de alérgenos colocados sobre las microagujas, que retienen al menos un alérgeno.

Las microagujas usadas en la presente memoria preparan mediante el uso de un material de resina no metálico, sintético o natural.

5 El material de resina no metálico, sintético o natural, puede ser un polímero biodegradable tal como ácido poliláctico, poliglicólido, ácido poliláctico-co-poliglicólido, capronolactona, poliuretano o polianhídrido, o un polisacárido tal como ácido hialurónico, pululano, dextrano, dextrina o sulfato de condroitina, o un polímero no degradable tal como policarbonato, ácido polimetacrílico, acetato de etilvinilo, politetrafluoroetileno o polioximetileno.

El alérgeno puede ser un péptido o péptidos o una proteína o proteínas.

Los medios de retención de alérgenos pueden ser un revestimiento sobre la superficie de las microagujas con el alérgeno usando un vehículo de revestimiento.

10 El revestimiento del alérgeno puede ser aplicado solo a la punta de la superficie de las microagujas.

El vehículo de revestimiento puede incluir un polímero soluble en agua que tiene un grupo hidroxilo.

El vehículo de revestimiento puede incluir un polímero soluble en agua que tiene un grupo hidroxilo, en el que el polímero está seleccionado entre el grupo que consiste en óxido de polietileno, polihidroximetilcelulosa, polihidroxipropilcelulosa, polihidroxipropilmetilcelulosa, polimetilcelulosa, dextrano, polietilenglicol y alcohol polivinílico.

15 El vehículo de revestimiento puede incluir un polisacárido. El polisacárido puede incluir un polímero soluble en agua seleccionado entre el grupo que consiste en pululano, carmelosa de sodio, sulfato de condroitina, ácido hialurónico, dextrano y goma arábiga.

El revestimiento puede estar en un estado de fijación a la superficie de las microagujas.

Efecto de la invención

20 En contraste con el ensayo de alergia convencional que generalmente requiere 48 horas, el dispositivo de microagujas para el diagnóstico de la presente invención permite la realización de un ensayo de piel más claro con una operación simple en un corto período de tiempo, tal como de aproximadamente 20 minutos. También puede proporcionarse un dispositivo de microagujas de bajo costo para el diagnóstico de una alergia, en el que el dispositivo puede causar menos dolor y puede prácticamente evitar el sangrado.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama que muestra un ejemplo del dispositivo de microagujas para el diagnóstico de una alergia de la presente invención, en la que (a) es una vista en perspectiva, y (b) es una vista en sección transversal A-B de (a); y

La Figura 2 es un gráfico que muestra los resultados de la evaluación de la fuga de azul de Evans.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

30 La Figura 1 es un diagrama que muestra un ejemplo del dispositivo de microagujas para el diagnóstico de una alergia de la presente invención, en la que (a) es una vista en perspectiva, y (b) es una vista en sección transversal A-B de (a). Tal como se muestra en la Figura 1(a), el dispositivo 1 de microagujas de la presente invención posee un sustrato 2 de microagujas y una pluralidad de microagujas 3 que están colocadas de manera bidimensional sobre el sustrato 2 de microagujas y son capaces de perforar la piel. Sobre las microagujas 3, se aplica un revestimiento 4 como un medio de retención de alérgenos que retiene al menos un alérgeno mediante el uso de un vehículo de revestimiento. Preferentemente, el revestimiento 4 está en un estado de fijación a la superficie de las microagujas 3. De manera alternativa, el revestimiento 4 puede ser colocado sobre el sustrato 2 de microagujas sobre el que están formadas las microagujas, aunque no se describe en el dibujo. Preferentemente, las microagujas 3 se preparan usando un material de resina no metálico, sintético o natural. Además, la forma de las microagujas 3 es una forma de cono circular en el presente ejemplo. Sin embargo, debería entenderse que la presente invención no está limitada en este sentido, y la forma puede ser una pirámide poligonal, tal como pirámide cuadrangular o puede ser otra forma.

45 El dispositivo de microagujas comprende partes de agujas (microagujas) que deben perforar la piel o la membrana mucosa y un sustrato que soporta la parte de agujas. Una pluralidad de estructuras de aguja están alineadas sobre el sustrato. En la presente invención, las estructuras de agujas de las microagujas son microestructuras. Por lo tanto, la longitud (altura h) de las microagujas está comprendida preferentemente en el intervalo de 50 μm a 500 μm . Más específicamente, la razón para establecer la longitud de las microagujas a 50 μm o más es la de garantizar la administración percutánea de un alérgeno. La razón para establecer la longitud de las microagujas a 500 μm o menos es evitar que las microagujas toquen los nervios con el propósito de reducir de manera constante la posibilidad de dolor, así como evitar indefectiblemente la posibilidad de hemorragia. Además, cuando su longitud es de 500 μm o

menos, la cantidad del antígeno que penetra en la piel puede ser administrada de manera eficiente.

Las microagujas usadas en la presente memoria se refieren a estructuras convexas y se refieren a objetos o estructuras con forma de aguja, incluyendo objetos con forma de aguja en un sentido amplio. Cuando las microagujas tienen una estructura de cono circular, el diámetro de la base está comprendido generalmente en el intervalo de 50 a 200 μm .

Además, la forma no se limita a un objeto con forma de aguja simple y puede incluir agujas de punta roma. De esta manera, las microagujas usadas en la presente memoria no se limitan a las agujas puntiagudas.

El sustrato de microagujas es un sustrato que soporta las microagujas. Su forma incluye, pero no se limita a, un sustrato equipado con un orificio que pasa a través del mismo, haciendo posible la administración de un antígeno desde el lado posterior del sustrato. Los ejemplos del material para las microagujas o el sustrato incluyen silicio, dióxido de silicio, cerámica, metal (tal como acero inoxidable, titanio, níquel, molibdeno, cromo y cobalto), y material de resina sintético o natural. Teniendo en cuenta la antigenicidad de las microagujas y el precio unitario del material, es particularmente preferente el uso de un polímero biodegradable tal como ácido poliláctico, poliglicólido, ácido poliláctico-co-poliglicólido, pululano, caprolactona, poliuretano o polianhídrido, o un policarbonato de polímero no degradable, o un material de resina sintético o natural, tal como ácido polimetacrílico, acetato de etilvinilo, politetrafluoroetileno o polioximetileno. Además, es preferente el uso de un polisacárido tal como ácido hialurónico, pululano, dextrano, dextrina o sulfato de condroitina.

El espacio entre las filas está configurado para proporcionar típicamente la densidad de las microagujas de aproximadamente 1 o 10 por 1 milímetro (mm) en una fila de agujas. Generalmente, las filas están separadas a intervalos prácticamente iguales al espacio de las agujas alineadas en la fila, y tienen la densidad de 100 a 10.000 agujas por 1 cm^2 . Cuando la densidad es de 100 agujas o más, la cantidad del antígeno que penetra en la piel puede ser administrada de manera eficiente. Cuando la densidad es de 10.000 agujas o más, se hace difícil proporcionar la fuerza a las microagujas de manera que sean capaces de perforar la piel.

Los ejemplos de procedimiento de fabricación de las microagujas incluyen el procesamiento de grabado en húmedo o el procesamiento de grabado en seco usando un sustrato de silicio, mecanizado de precisión usando metal o resina (tal como mecanizado por descarga, mecanizado por láser, procesamiento de corte en dados, estampado en caliente y moldeo por inyección), y corte mecánico. Con dicho procedimiento de procesamiento, la parte de la aguja y la parte de soporte se moldean en una única pieza. Un ejemplo de procedimiento de vaciamiento de la parte de aguja incluye un procedimiento para realizar un procesamiento secundario usando mecanización por láser y similares después de preparar la parte de la aguja.

La presente invención permite el revestimiento de las microagujas con un antígeno usando agua purificada y/o un vehículo de revestimiento de alto peso molecular, o agua purificada y/o un vehículo de revestimiento de bajo peso molecular. Esta característica garantiza una mayor permeabilidad para los compuestos de alto peso molecular con pobre capacidad de absorción. Más específicamente, toda la superficie de las microagujas o una parte de la misma se revisten con un agente de revestimiento seleccionado entre vehículos de revestimiento de alto peso molecular, tales como óxido de polietileno, polihidroximetilcelulosa, polihidroxiopropilcelulosa, polihidroxiopropilmetilcelulosa, polimetilcelulosa, dextrano, polietilenglicol y alcohol polivinílico, vehículos de revestimiento de bajo peso molecular tales como sales, incluyendo cloruro de sodio y similares, y azúcar incluyendo glucosa y similares. Posteriormente, las microagujas se secan. Cuando se aplican las microagujas, la capa córnea de la piel es perforada con las microagujas revestidas. Al hacer esto, el antígeno liberado desde el revestimiento pasa a través de los poros perforados, y es absorbido por vía percutánea. En este caso, el revestimiento puede ser disuelto por el fluido corporal en la piel. De manera alternativa, un líquido para disolver el revestimiento puede ser aplicado por separado al sitio de aplicación en la piel o al propio revestimiento.

Los vehículos de revestimiento preferentes son vehículos de revestimiento de alto peso molecular. Entre ellos, los más preferentes son polímeros solubles en agua que tienen un grupo hidroxilo tal como óxido de polietileno, polihidroximetilcelulosa, polihidroxiopropilcelulosa, polihidroxiopropilmetilcelulosa, polimetilcelulosa, dextrano, polietilenglicol, alcohol polivinílico, pululano, carmelosa de sodio, sulfato de condroitina, ácido hialurónico y goma arábica. Particularmente preferente es el alcohol polivinílico. El grado de saponificación del alcohol polivinílico está comprendido en el intervalo del 78 al 100% molar. Particularmente preferente es un grado con un grado de saponificación relativamente bajo. El grado de saponificación de un grado de saponificado parcial o intermedio, tal como PVA-220 (fabricado por KURARAY CO., LTD.) es de aproximadamente el 94% molar. Además, el grado de polimerización promedio del alcohol polivinílico está comprendido en el intervalo de 200 a 5.000. Preferentemente, el grado de polimerización promedio comprendido en el intervalo de 500 a 2.000 es más eficaz, ya que tiene una solubilidad relativamente alta.

Además, en caso de considerar la compatibilidad (propiedad de ser mezclado homogéneamente) con un alérgeno con un peso molecular relativamente alto, son preferentes los vehículos de polisacáridos tales como

5 polihidroxiacetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, polihidroxiacetilcelulosa, polimetilcelulosa, dextrano, polietilenglicol, pululano, carmelosa de sodio, sulfato de condroitina, ácido hialurónico, dextrano y goma arábica. Más preferentes son hidroxipropilcelulosa, pululano y la goma arábica. Particularmente, más preferentes son hidroxipropilcelulosa (HPC-SSL (peso molecular: 15.000 a 30.000), HPC-SL (peso molecular: 30.000 a 50.000), HPC-L (peso molecular: 55.000 a 70.000), HPC-M (peso molecular: 110.000 a 150.000), HPC-H (peso molecular: 250.000 a 400.000)), pululano y ácido hialurónico.

10 El contenido del vehículo de revestimiento en el agente de revestimiento está comprendido en el intervalo del 1 al 70% en peso, preferentemente en el intervalo del 1 al 40% en peso y, de manera particularmente preferente en el intervalo del 3 al 25% en peso. Además, es posible que el vehículo de revestimiento deba tener un grado de viscosidad de manera que el agente de revestimiento no cause un escape de líquido. La viscosidad requerida está comprendida aproximadamente en el intervalo de 10 a 10.000 Pa.s. La viscosidad más preferente está comprendida en el intervalo de 500 a 5.000 Pa.s, y la viscosidad más preferente está comprendida en el intervalo de 500 a 3.000 Pa.s.

15 El espesor de revestimiento sobre las microagujas es de menos de 50 μm , más preferentemente de menos de 25 μm y, más específicamente, en el intervalo de 1 a 10 μm . Generalmente, el espesor de revestimiento es el espesor promedio medido a lo largo de la superficie de las microagujas después del secado. Generalmente, el espesor de revestimiento puede ser aumentado mediante la aplicación de una pluralidad de revestimientos del vehículo de revestimiento, y un revestimiento puede ser formado secando el revestimiento durante los intervalos de revestimiento consecutivos. El agente de revestimiento es aplicado a las microagujas usando un procedimiento conocido, y el revestimiento es fijado a las mismas mediante secado. Además, el agente de revestimiento puede ser aplicado a la superficie interior del canal hueco de la estructura de aguja de las microagujas y la superficie inferior del sustrato de microagujas. Sin embargo, en términos de eficiencia, es suficiente aplicar el revestimiento a la parte de aguja que realmente penetra en la piel y, en particular, sólo a la parte de la punta de las agujas.

20 Una composición líquida a ser usada para revestir las microagujas es preparada mezclando un vehículo biocompatible, una sustancia con una acción beneficiosa a ser transportada y cualquier sustancia auxiliar de revestimiento en algunos casos con un líquido volátil. El líquido volátil puede ser agua, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, etanol, alcohol isopropílico y una mezcla de los mismos. El agua es el más preferente de entre los mismos. La concentración de sustancia activa fisiológicamente beneficiosa en la solución o suspensión líquida de revestimiento puede estar comprendida típicamente en el intervalo del 0,1 al 65% en peso, preferentemente en el intervalo del 1 al 30% en peso y, más preferentemente, del 3 al 20% en peso. Es particularmente preferente que el revestimiento esté en un estado de fijación. La expresión "estado de fijación" se refiere a un estado en el que el vehículo de revestimiento está depositado casi uniformemente sobre el sujeto. Inmediatamente después del revestimiento, el vehículo de revestimiento es fijado en el estado seco mediante el procedimiento de secado conocido como secado con aire, secado en vacío, secado por congelación y una combinación de los mismos. Sin embargo, después de la administración subcutánea, el vehículo de revestimiento no siempre es fijado en el estado seco, ya que puede retener un contenido de humedad o un disolvente orgánico, etc., que está en equilibrio con la atmósfera circundante.

35 Las otras sustancias auxiliares conocidas de la formulación pueden añadirse al revestimiento siempre que no tengan efectos perjudiciales sobre las propiedades requeridas, tales como la solubilidad y la viscosidad del revestimiento y sobre la integridad física del revestimiento seco.

40 En un ensayo para alergias a sustancias metálicas y químicas, las sustancias metálicas y químicas correspondientes pueden ser usadas como alérgenos. En un ensayo de alergia para revelar los antígenos para la dermatitis atópica, polvo doméstico, ácaros, hongos, bacterias y composiciones constituyentes de alimentos y similares pueden usarse como alérgenos. En caso de alergias al polen, puede usarse polen de diversas especies tales como cedro, ciprés, ambrosía, artemisa, abedul, plantas de arroz. Además, puede usarse también el antígeno para la reacción de tuberculina.

45 En caso de alergias a alimentos, pueden usarse diversos componentes constituyentes de alimentos que se sospecha que están involucrados en la aparición y el agravamiento de las alergias, tales como huevos, leche, productos lácteos, carne, arroz, alubias, pescado y frutas.

50 Dichos componentes constituyentes pueden ser usados como productos brutos extraídos por el procedimiento general o como un componente individual purificado. Además, pueden usarse también los productos que son producidos en masa mediante la introducción de un gen a un microorganismo o célula animal mediante la aplicación de ingeniería genética. Además, pueden usarse también productos degradados, péptidos de fragmentos arbitrarios de los antígenos o antígenos, en los que una parte de los aminoácidos están mutados. Aunque estos antígenos pueden ser usados individualmente, es posible usar un procedimiento del que se espera un efecto más amplio mediante una combinación de dos o más antígenos.

55

Ejemplos**(Ejemplo 1)**

5 Se administró por vía intraperitoneal proteína lisozima/adyuvante completo de Freund (1:1) (400 µg/rata) a ratas 12W sin pelo. Dejando pasar 12 días, se estableció el modelo de anafilaxia en ratas, en el que las ratas adquirieron inmunidad (IgE) contra la proteína lisozima.

Posteriormente, bajo anestesia con uretano, se administró un 3% de solución de azul de Evans (EB) (100 µl/100 g de peso corporal) a las ratas, a través de la arteria carótida. A continuación, se administró la proteína lisozima al abdomen derecho e izquierdo mediante los procedimientos descritos en los Ejemplos Comparativos 2 a 4 y los Ejemplos 1 y 2, a continuación. La proteína lisozima no se administró en el Ejemplo Comparativo 1.

10 Además, la evaluación de la coloración azul de Evans se llevó a cabo mediante el procedimiento siguiente. Más específicamente, el sitio de administración sobre la piel se peló y se punzó con un punzón de piel con un diámetro interior de 12 mm (Φ 12) para extraer la sección de piel. La sección de piel se disolvió con 1 ml de hidróxido de potasio 1 N y se dejó reposar a 37°C durante la noche. A la sección de piel disuelta, se añadieron 2,5 ml de una solución de ácido fosfórico 0,6 N y 6,5 ml de acetona. Posteriormente, la mezcla se centrifugó (1.100*g, 20 minutos). Se recogieron doscientos µl del sobrenadante y se midieron con un lector de placas (espectrofotómetro). La Figura 2 muestra los resultados de la evaluación de fugas de azul de Evans.

(Ejemplo Comparativo 1)

No se administró la proteína lisozima en el procedimiento del Ejemplo 1. Por el contrario, el Ejemplo Comparativo 1 se preparó haciendo gotear 20 µl de una solución salina.

(Ejemplo Comparativo 2)

La proteína lisozima en el procedimiento del Ejemplo 1 se administró mediante el siguiente procedimiento. Las microagujas no revestidas (realizadas en ácido poliláctico, longitud 250 µm, densidad 841 agujas/cm²) se usaron para perforar durante 5 segundos. Posteriormente, una formulación de tela no tejida (área de 1 cm²) impregnada con una solución de proteína lisozima al 5% (400 µl) se parcheó durante 10 minutos.

(Ejemplo Comparativo 3)

La proteína lisozima en el procedimiento del Ejemplo 1 se administró por vía intracutánea mediante el siguiente procedimiento. Veinte µl de una solución de proteína lisozima al 5% se aplicó, gota a gota, sobre las microagujas no revestidas (realizadas en ácido poliláctico, longitud 250 µm, densidad de 841 agujas/cm²). El dispositivo de microagujas se comprimió y parcheó durante 10 minutos.

(Ejemplo Comparativo 4)

En el procedimiento del Ejemplo, se administraron 1,25 µl de proteína lisozima al 0,5% por vía intracutánea para preparar el Ejemplo Comparativo 4.

(Ejemplo 1)

35 A una solución al 15% de alcohol polivinílico (PVA220: fabricado por KURARAY CO., LTD), la proteína lisozima se disolvió para conseguir la concentración del 5%. La solución se usó para revestir las microagujas (fabricadas en ácido poliláctico, longitud 250 µm, densidad de 841 agujas/cm²) tres veces consecutivas usando una máscara de metal, y las microagujas se secaron. Posteriormente, el dispositivo de microagujas se comprimió y parcheó durante 10 minutos.

(Ejemplo 2)

La proteína lisozima del Ejemplo 1 se disolvió para conseguir la concentración del 10% para preparar el Ejemplo 2.

40 En el gráfico de la Figura 2, que muestra los resultados de la evaluación de la fuga de azul de Evans, el valor del Ejemplo Comparativo 1 se muestra como una línea horizontal. Tal como indica el gráfico de la Figura 2, el grado de la coloración azul de Evans en los Ejemplos 1 y 2 era obviamente superior al de los Ejemplos Comparativos. Esto sugiere que la administración de la proteína lisozima (el antígeno) usando el revestimiento de las microagujas induce una reacción de alergia de manera más eficaz.

(Ejemplo 3) Ensayo para confirmar la compatibilidad de diversos polímeros con BSA y OVA

Procedimiento de operación

Se prepararon soluciones acuosas mezcladas de diversos polímeros y BSA u OVA según las condiciones descritas en

5 la Tabla 1 y la Tabla 2, a continuación. La compatibilidad se evaluó mediante la confirmación de la aparición de agregación y la presencia de la separación de fases después de la desaireación centrífuga (las condiciones de centrifugación se describen en las tablas) (estado líquido homogéneo: marcado con O, y el estado líquido heterogéneo: marcado con X). En la Tabla 1 y la Tabla 2, la marca O indica aquellos que tienen compatibilidad y la marca X indica aquellos que no tienen compatibilidad. Además, la noción % significa % en peso en adelante, en la presente memoria. La medición del contenido de revestimiento se realizó mediante la medición del contenido de BSA u OVA (depósito) después de la extracción con 1 ml de agua purificada después del revestimiento mediante el procedimiento descrito en la Figura 2 anterior. Además, la expresión "no disponible" se refiere al hecho de que no se confirmó ninguna deposición del polímero en las agujas.

10

(Tabla 1)

Polímero	Concentración de polímero (%)	Concentración OVA (%)	Compatibilidad (condiciones de centrifugación)	Contenido de revestimiento (µg)
Pululano	20	20	O (15000 rpm X 2 min)	50
Pululano	15	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	16
Pululano	7,5	16,7	X	-
Pululano	5	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-SSL	15	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-SSL	20	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-SSL	25	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-SL	25	25	O (15000 rpm X 2 min)	41
Hidroxipropilcelulosa-SL	15	30	X	-
Hidroxipropilcelulosa-L	13,3	16,7	O (3000 rpm X 2 min)	9
Hidroxipropilcelulosa-L	16,7	16,7	O	16
Hidroxipropilcelulosa-L	20	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-L	16	20	X	-
Hidroxipropilcelulosa-L	13,3	20	X	-
Hidroxipropilcelulosa-L	15	30	X	-
Hidroxipropilcelulosa-H	4	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-H	3	16,7	O (5000 rpm X 2 min)	6
Hidroxipropilcelulosa-H	2	16,7	O (5000 rpm X 2 min)	5
Hidroxipropilcelulosa-H	1,5	16,7	O (5000 rpm X 2 min)	-
Hidroxipropilcelulosa-H	1	16,7	O (5000 rpm X 2 min)	1
Metilcelulosa (SM-25)	7,5	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-25)	4	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-25)	2	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-400)	5	16,7	X	-

ES 2 473 620 T3

(Cont.)

Metilcelulosa (SM-400)	3	16,7	O (5000 rpm X 2 min)	7
Metilcelulosa (SM-400)	1	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-8000)	2,7	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-8000)	4	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-8000)	3	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-8000)	2	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	3
Metilcelulosa (SM-8000)	1	16,7	X	-
Ácido hialurónico (MW900000)	4	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	2
Ácido hialurónico (MW900000)	3	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	4
Ácido hialurónico (MW900000)	2	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	4
Ácido hialurónico (MW900000)	1	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	3
Ácido hialurónico (MW2000000)	2	16,7	X	-
Poliacrilato parcialmente neutralizado (NP-600)	3	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	No disponible
Poliacrilato parcialmente neutralizado (NP-600)	1,5	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	No disponible
Poliacrilato parcialmente neutralizado (NP-800)	3	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	No disponible
Poliacrilato parcialmente neutralizado (NP-800)	1,5	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	No disponible
Polietilenglicol-2000	20	16,7	X	-
Polietilenglicol-2000	10	16,7	X	-
Alcohol polivinílico	10	16,7	X	-
Alcohol polivinílico	5	16,7	X	-

(Tabla 2)

Polímero	Concentración de polímero (%)	Concentración BSA (%)	Compatibilidad	Contenido de revestimiento (µg)
Pululano	15	30	O (15000 rpm X 2 min)	30
Pululano	20	20	O (15000 rpm X 2 min)	18
Hidroxipropilcelulosa-SSL	35	16,7	X	.
Hidroxipropilcelulosa-SSL	20	16,7	X	.
Hidroxipropilcelulosa-SSL	10	16,7	X	.

ES 2 473 620 T3

(Cont.)

Hidroxipropilcelulosa-SSL	37,5	10	X	-
Hidroxipropilcelulosa-SL	25	20	O (15000 rpm X 2 min)	20
Hidroxipropilcelulosa-SL	20	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-SL	16,7	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-L	15	10	X	-
Hidroxipropilcelulosa-L	20	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-L	16,7	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-L	13,3	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-M	5	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-M	3	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-M	1	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-H	3	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-H	2	16,7	X	-
Hidroxipropilcelulosa-H	1	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-25)	4	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-25)	2	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-25)	1	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-400)	5	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-400)	3	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-400)	1	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-8000)	3	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-8000)	2	16,7	X	-
Metilcelulosa (SM-8000)	1	16,7	X	-
Dextrano (MW40000)	50	11,4	O (15000 rpm X 2 min)	-
Dextrano (MW70000))	37,5	10	O (15000 rpm X 2 min)	-
Ácido hialurónico (MW900000)	3	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	-
Ácido hialurónico (MW900000)	2	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	-
Ácido hialurónico (MW900000)	1	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	-
Ácido hialurónico (MW900000)	2,7	13,3	O (15000 rpm X 2 min)	-
Poliacrilato parcialmente neutralizado (NP-600)	3	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	No disponible
Poliacrilato parcialmente neutralizado (NP-600)	1,5	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	No disponible

(Cont.)

Poliacrilato parcialmente neutralizado (NP-800)	3	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	No disponible
Poliacrilato parcialmente neutralizado (NP-800)	1,5	16,7	O (15000 rpm X 2 min)	No disponible
Hidroxipropilmetilcelulosa (90SH-30000)	3,75	10	X	-
Hidroxipropilmetilcelulosa (90SH-30000)	2,5	20	X	-
Hidroxipropilmetilcelulosa (65SH-1500)	3,75	10	X	-
Hidroxipropilmetilcelulosa (65SH-1500)	2,5	20	X	-
Polivinilpirrolidona (K29/32)	35	20	X	-
Polivinilpirrolidona (K29/32)	52,5	10	X	-
Polivinilpirrolidona (K90)	15	20	X	-
Polivinilpirrolidona (K90)	22,5	10	X	-
Polivinilpirrolidona (K90)	10	13,3	X	-
Polivinilpirrolidona (K90)	24	8	X	-
Polivinilpirrolidona (K90)	10	26,7	X	-
Polivinilpirrolidona (K90)	6	32	X	-
Hidroximetilcelulosa (TC-5)	15	5	X	-
Hidroximetilcelulosa (TC-5)	10	20	X	-
Polietilenglicol-20000	20	16,7	X	-
Polietilenglicol-20000	10	16,7	X	-
Alcohol polivinílico	10	16,7	X	-
Alcohol polivinílico	5	16,7	X	-
Carmelosa Na	7,5	10	X	-
Sulfato de condroitina	30	10	X	-

5 Las Tablas 1 y 2 muestran los resultados de compatibilidad de OVA o BSA y cada polímero soluble en agua y el contenido de BSA o de OVA cuando se usa para revestir las microagujas. Pululano, hidroxipropilcelulosa (HPC), metilcelulosa, ácido hialurónico y poliacrilato de Na mostraron una alta compatibilidad al optimizar la relación de composición de la sustancia fisiológicamente activa y el polímero soluble en agua. Particularmente, pululano mostró una alta compatibilidad con OVA a alta concentración. Además, cuando las soluciones se usaron para llevar a cabo el revestimiento de las microagujas mediante el procedimiento descrito en la Figura 2, el pululano mostró el valor más alto, seguido en orden por hidroxipropilcelulosa (SL), metilcelulosa y ácido hialurónico. La hidroxipropilcelulosa mostró una diferencia en la cantidad de revestimiento según sus grados. Los valores mostraron una tendencia a descender en el orden HPC-SL > HPC-L > HPC-H. Se sospecha que la razón de esto es que la viscoelasticidad (viscosidad) de la hidroxipropilcelulosa mostró una tendencia a aumentar conforme se redujo el peso molecular del polímero, resultando en la elevación de la deposición de las microagujas. Además, la metilcelulosa mostró una compatibilidad favorable con OVA, pero no mostró condiciones favorables con BSA. Aunque el ácido hialurónico mostró una compatibilidad favorable tanto con OVA como con BSA, tenía mala viscosidad y no proporcionó una cantidad de revestimiento

5 suficiente. Aunque el poliacrilato de Na mostró una compatibilidad favorable, no se confirmó ninguna deposición sobre las agujas. Esto probó que no era adecuado como un vehículo de revestimiento. En base a los resultados, usando un vehículo de revestimiento que tiene compatibilidad con una sustancia fisiológicamente activa, de alto peso molecular, puede conseguirse un revestimiento en el que la sustancia fisiológicamente activa, de alto peso molecular, está incluida prácticamente de manera uniforme.

Además, se usaron los diversos polímeros siguientes. Se usaron, respectivamente, metilcelulosa (SM-25, SM-400 y SM-8000), fabricada por Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., poliacrilato (NP-600 y NP-800) fabricado por Showa Denko K.K., hidroxipropilmetilcelulosa (90SH-30000, 65SH-1500 y TC-5) fabricada por Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., y polivinilpirrolidona (K29/32 y K90) fabricada por Nippon Shokubai Co., Ltd.

10 **Aplicabilidad industrial**

Según la presente invención, descrita anteriormente, se posibilita la realización de un ensayo de piel más claro con una operación simple durante un corto período de tiempo. También pueden proporcionarse microagujas de bajo costo para el diagnóstico de una alergia. Esto representaría una contribución significativa al desarrollo de la industria médica y a sus industrias relacionadas.

15

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia, que comprende:
- un sustrato (2),
- 5 microagujas (3) formadas sobre el sustrato (2) a una densidad de 100 a 10.000 agujas por 1 cm², que pueden perforar la piel hasta una profundidad de entre 50 µm y 500 µm, y
- medio de retención de alérgenos colocados en las microagujas (3), que retienen al menos un alérgeno,
- en el que las microagujas (3) se preparan usando un material de resina no metálico, natural o sintético.
2. Dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia según la reivindicación 1, en el que el material de resina no metálico, natural o sintético, es un polímero biodegradable tal como ácido poliláctico, poliglicólido, ácido poliláctico-co-poliglicólido, caprolactona, poliuretano o polianhídrido; o ácido hialurónico, pululano, dextrano, dextrina o sulfato de condroitina que son todos polisacáridos; o policarbonato, ácido polimetacrílico, acetato de etilenvinilo, politetrafluoroetileno o polioximetileno que son todos polímeros no degradables.
- 10 3. Dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el alérgeno es un péptido o péptidos o una proteína o proteínas.
- 15 4. Dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el medio de retención de alérgenos es un revestimiento (4) sobre la superficie de las microagujas con el alérgeno usando un vehículo de revestimiento.
5. Dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia según la reivindicación 4, en el que el vehículo de revestimiento incluye un polímero soluble en agua que tiene un grupo hidroxilo.
- 20 6. Dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia según la reivindicación 5, en el que el vehículo de revestimiento incluye un polímero soluble en agua que tiene un grupo hidroxilo, en el que el polímero se selecciona entre el grupo que consiste en óxido de polietileno, polihidroximetilcelulosa, polihidroxipropilcelulosa, polihidroxipropilmetilcelulosa, polimetilcelulosa, dextrano, polietilenglicol y alcohol polivinílico.
- 25 7. Dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia según la reivindicación 5, en el que el vehículo de revestimiento incluye un polisacárido.
8. Dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia según la reivindicación 7, en el que el polisacárido incluye un polímero soluble en agua seleccionado entre el grupo que consiste en pululano, carmelosa de sodio, sulfato de condroitina, ácido hialurónico, dextrano y goma arábiga.
- 30 9. Dispositivo (1) de microagujas para el diagnóstico de una alergia según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, en el que el revestimiento (4) está en un estado de fijación a la superficie de las microagujas.

FIG. 1

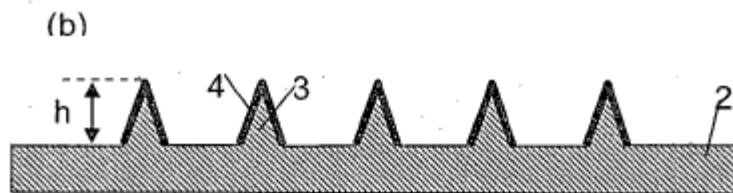
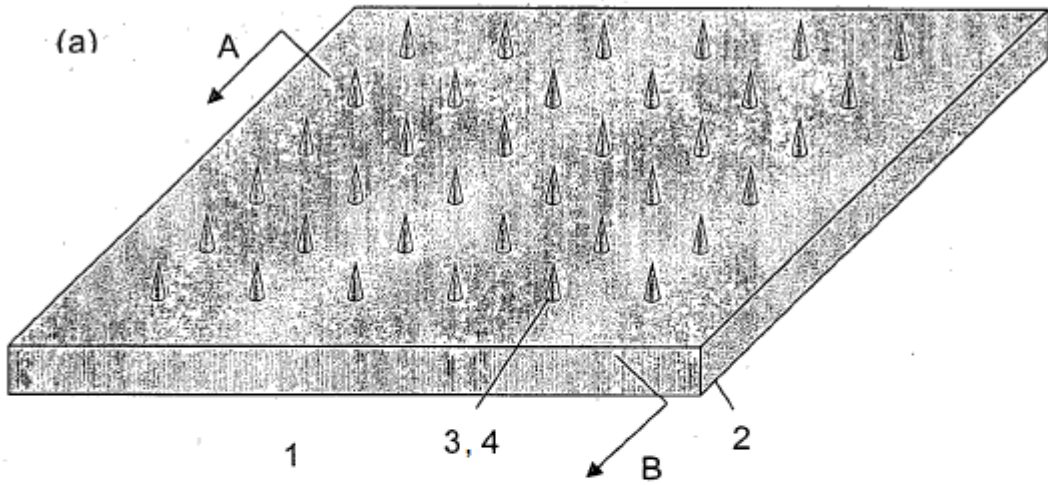


FIG. 2

