

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 910**

51 Int. Cl.:

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/80 (2006.01)

G01N 21/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2013** **E 13188722 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016** **EP 2722671**

54 Título: **Mejora de la tasas de flujo de microesferas de vidrio para facilitar la fabricación de elemento de prueba de inmunodiagnóstico**

30 Prioridad:

16.10.2012 US 201213653069

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

19.10.2016

73 Titular/es:

**ORTHO-CLINICAL DIAGNOSTICS, INC. (100.0%)
1001 U.S. Route 202
Raritan, NJ 08869, US**

72 Inventor/es:

**CROWTHER, JONATHAN BURR;
SUROWITZ, AMY LOUISE y
LUCZAK, ANNA KRYSZYNA**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 586 910 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).

Mejora de la tasas de flujo de microesferas de vidrio para facilitar la fabricación de elemento de prueba de inmunodiagnóstico

Descripción

5

CAMPO TECNICO

10 La materia divulgada en la presente se refiere de manera general a microesferas de vidrio como se usan en un elemento de prueba de inmunodiagnóstico y más específicamente a un método para mejorar las propiedades del flujo de las microesferas de vidrio para su uso en un elemento de prueba sin interferir con la funcionalidad del mismo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 La tecnología de aglutinación en columna (CAT) emplea un elemento de prueba de inmunodiagnóstico, como un casete o tarjeta, que incluye o soporta una pluralidad de columnas o cámaras. Una cantidad de microesferas que están típicamente hechas de vidrio o material similar o, alternativamente, una matriz de gel se añaden a las columnas del elemento de prueba junto con un reactivo adecuado antes de la adición de una muestra del paciente, como sangre total, plasma, suero o glóbulos rojos. Se puede crear entonces una reacción de aglutinación en cada cámara de prueba seguido por centrifugación o agitación del elemento de prueba, permitiendo de este modo la determinación del grupo sanguíneo u otras pruebas. Durante la centrifugación, los aglutinantes grandes quedan atrapados sobre las microesferas mientras que los aglutinantes más pequeños quedan atrapados a lo largo de la longitud de la columna, dentro de las microesferas o matriz de gel, y los glóbulos rojos más pequeños (RBC) pasan a través de ellos hacia el fondo de la columna. Ejemplos de casetes de prueba que emplean CAT se describen en las Patentes U.S. Nº 5.338.689 y 5.863.802.

20 La EP0485228A1 describe un método para detectar la presencia de ligandos de enlace que utiliza una matriz de micropartículas sustancialmente no comprimibles. La EP0849595A1 describe un método para detectar un analito en un líquido que utiliza un reactivo de aglutinación y una matriz inerte, en el que el reactivo de aglutinación comprende partículas sintéticas.

30 La fabricación eficiente de los elementos de prueba de aglutinación en columna requiere que las microesferas usadas en la misma sean capaces de fluir libremente durante un paso de llenado de fabricación cuando las microesferas de vidrio son dispensadas inicialmente en cada una de las columnas de prueba. Después de su fabricación, y como se recibe de los distribuidores, las microesferas de vidrio tienen típicamente tasas de flujo adecuadas. Sin embargo, las microesferas también incluyen varias impurezas, como polvo, aceites y carbonato de sodio, que evitarían la consistencia general en el uso. Por lo tanto, las microesferas se lavan antes de llenar las columnas de un elemento de prueba. Aunque la operación de lavado elimina las impurezas, este proceso también produce fuerzas de atracción entre las microesferas que pueden retardar significativamente las tasas de flujo de las microesferas e impactar en el tiempo de fabricación en el llenado de las cámaras de un elemento de prueba.

35 Las microesferas de vidrio de borosilicato Tipo I de aproximadamente 50-120 µm de diámetro se usan típicamente en la fabricación de elementos de prueba de aglutinación en columna. La superficie lisa limpia de las microesferas provoca que cada microesfera se asocie, o adhiera, a microesferas adyacentes en sus puntos de contacto. Esta fuerza de cohesión impacta negativamente en la capacidad de las microesferas de fluir. Por lo tanto, hay una necesidad para mejorar las tasas de flujo de las microesferas de vidrio limpias y de minimizar la variabilidad de las tasas de flujo entre lotes diferentes de microesferas limpias para reducir el tiempo de inactividad de la máquina de fabricación.

50 BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

Los estudios en curso han demostrado que mezclar microesferas de vidrio con cantidades de traza de nanopartículas químicamente inertes, como sílice ahumado, resulta en una mejora significativa de la tasa de flujo de las microesferas de vidrio y puede mejorar el proceso de llenado del elemento de prueba. Como las microesferas limpias y secas no pueden fluir libremente debido a las fuertes fuerzas de atracción entre las microesferas limpias, se hace ventajoso interrumpir esas fuerzas a través de la adición de nanopartículas inertes, como sílice ahumado. Estas nanopartículas se adhieren a la superficie exterior de las microesferas de vidrio, provocando imperfecciones en la superficie que interrumpen las fuerzas de atracción entre las microesferas de vidrio y mejoran sus propiedades de flujo. Ventajosamente, la adición de sílice ahumado u otras nanopartículas inertes adecuadas no tiene impacto en la función o eficacia del elemento de prueba. Una pequeña cantidad de sílice ahumado añadido, por ejemplo a una tasa de alrededor de 0,0001% a alrededor de 1,0% en peso, proporciona mejora de flujo significativa durante la fabricación. La presencia de reactivo acuoso en las columnas elimina de manera efectiva la asociación de las nanopartículas con las microesferas de vidrio y por lo tanto no interfiere con la reacción de aglutinación creada posteriormente.

65

La invención se define por las reivindicaciones añadidas.

La presente invención se apreciará y entenderá mejor cuando se considere en conjunción con la siguiente descripción y los dibujos acompañantes. Se debe entender, sin embargo, que la siguiente descripción, aunque indica realizaciones preferidas de la presente invención y numerosos detalles específicos de la misma, se da a modo de ilustración y no de limitación. Por ejemplo, las descripciones resumidas anteriores no se pretende que describan realizaciones separadas individuales cuyos elementos no son intercambiables. De hecho, muchos de los elementos descritos en relación a una realización particular pueden usarse junto, y posiblemente intercambiarse con, elementos de otras realizaciones descritas. Se pueden hacer muchos cambios y modificaciones dentro del alcance de la presente invención y la invención incluye tales modificaciones. Las figuras siguientes no se pretende que estén dibujadas a ninguna escala precisa con respecto al tamaño relativo, relación angular o posición relativa ni a cualquier relación combinatoria con respecto a intercambiabilidad, sustitución, o representación de una implementación real.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 es un diagrama de la fabricación y uso de un elemento de prueba de aglutinación en columna;

La FIG: 2 es un diagrama de flujo de un método de preparar microesferas de vidrio para la fabricación del elemento de prueba de aglutinación en columna;

La FIG. 3 representa el efecto de nanopartículas inertes en las superficies de las microesferas de vidrio durante la mezcla; y

La FIG. 4 es una tabla comparativa de tasas de flujo de las microesferas de vidrio en base a la preparación.

DESCRIPCION DETALLADA

A lo largo de la siguiente exposición, varios términos como "exterior", "interior", "parte superior", "parte inferior", "por encima" y "por debajo" se usan para proporcionar un marco adecuado de referencia respecto a los dibujos acompañantes.

El término "muestra" significa un volumen de un líquido, solución o suspensión, que se pretende sea sometido a determinación cualitativa o cuantitativa de cualquiera de sus propiedades, como la presencia o ausencia de un componente, la concentración de un componente, etc. Las realizaciones de la presente invención son aplicables a muestras humanas y animales de sangre total. Las muestras típicas en el contexto de la presente invención como se describe en la presente incluyen sangre, plasma, glóbulos rojos, suero y suspensión de la misma.

El término "alrededor" como se usa en conexión con un valor numérico a lo largo de la descripción y reivindicaciones denota un intervalo de precisión, familiar y aceptable para un experto en la técnica. El intervalo que gobierna este término es preferiblemente de $\pm 10\%$. A menos que se especifique, los términos descritos anteriormente no se pretende que limiten el alcance de la invención como se describe en la presente y de acuerdo con las reivindicaciones.

En referencia a los dibujos, la FIG. 1 ilustra una realización **100** ejemplar de una aplicación de microesferas de vidrio micronizadas que tienen nanopartículas añadidas a las mismas. Más específicamente, un elemento de prueba de inmunodiagnóstico **101** que emplea tecnología de aglutinación en columna (CAT) comprende un sustrato plano **111** hecho de un material adecuadamente rígido, como un plástico u otros materiales inertes que soportan una pluralidad de columnas de prueba **103** formadas en una configuración tubular y dispuestas en una matriz lineal **112**. De acuerdo con la presente realización, se proporcionan seis (6) columnas de prueba **103** en paralelo y están espaciadas igualmente una de otra. Se observará que el número de columnas de prueba puede variarse fácilmente. cada una de las columnas de prueba **103** está dimensionada para retener una cantidad de las microesferas de vidrio y al menos un reactivo acuoso **104** para propósitos de prueba en una muestra de paciente, como sangre total **105** y/o plasma, suero o suspensión de glóbulos rojos.

Cuando se prueba una muestra de sangre **105**, una cantidad de una muestra de sangre **105** del paciente se dispensa en cada una de las columnas de prueba **103** a través de una abertura en la parte superior de las columnas **103**. El elemento de prueba **101** se centrifuga entonces o se agita verticalmente para producir una mezcla de la muestra y el agente de aglutinación. Mientras está siendo dada vueltas por la centrifugadora **106**, la sangre desciende a varios niveles, en base al tamaño de los aglutinantes formados, a través de las microesferas de vidrio **102** y el reactivo acuoso **104**, como es impulsada por las fuerzas g aplicadas. Dependiendo de la aglutinación de la muestra de sangre **105** en el reactivo acuoso **104**, toda o porciones de la muestra de la muestra de sangre pueden pasar a través de las microesferas de vidrio **102**. Las células aglutinadas **109** no pasan completamente a través de las microesferas de vidrio mientras que los glóbulos rojos **108** continúan pasando entre las microesferas **102** y eventualmente se hunden en el fondo de la columna de prueba **103**. Dependiendo de la cantidad de aglutinación, los aglutinantes pueden verse atrapados en las microesferas de vidrio **102** a varios niveles. El patrón de aglutinación

característico de la muestra de sangre determina el resultado de la reacción de la muestra **105** usando una métrica de patrón de aglutinación convencional **110** para comparación. De esta manera, las microesferas de vidrio **102** actúan como un filtro para el paso de la sangre a través de las mismas en base a las propiedades de aglutinación de la muestra de sangre y facilitan la inspección para determinar la extensión de la reacción, ya sea visualmente o por visión instrumental.

Como se ha indicado anteriormente y para lograr el llenado eficiente de las columnas de prueba **103** del elemento de prueba **101** descrito en la presente con microesferas de vidrio, es deseable mantener propiedades de flujo uniformes de las microesferas de vidrio **102** de lote a lote de fabricación. La FIG. 2 ilustra un diagrama de flujo que representa una metodología para prepararlas microesferas de vidrio **102** micronizadas para su uso en un elemento de prueba de inmunodiagnóstico, como un casete o tarjeta de prueba que emplea tecnología de aglutinación en columna. En el paso **201** las microesferas se reciben de un suministrador en un tamaño sustancialmente no modificable. De acuerdo con una realización ejemplar, se suministran microesferas de vidrio de borosilicato tipo 1 y preferiblemente Tipo 1A, variando en tamaño de alrededor de 50 - 120 μm de diámetro, más preferiblemente de 65 - 90 μm de diámetro e incluso más preferiblemente de 75 -90 μm de diámetro. Las designaciones Tipo 1 y Tipo A1 son designadores de clase asignados por la Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (ASTM). Las microesferas de vidrio comprenden típicamente un 85-95% de SiO_2 por peso y tienen un tamaño medio de alrededor de 80 μm de diámetro, con Na_2O , B_2O_3 , y Al_2O_3 comprendiendo otros componentes químicos ejemplares de las microesferas.

Como un paso inicial, las microesferas de vidrio no lavadas pueden probarse para tasas de flujo y otras propiedades incluso aunque el proceso de lavado no se haya realizado todavía. Este paso de prueba puede ayudar a asegurar que las microesferas fluyan a una tasa adecuada después de los pasos de lavado de las microesferas de vidrio y añadir nanopartículas a las microesferas de vidrio, como se describirá a continuación. Otros requisitos de control de calidad para las microesferas de vidrio entrantes pueden incluir, por ejemplo, una cantidad mínima de microesferas decoloradas a través de inspección visual, un requisito mínimo de conformidad esférica, así como la verificación de un intervalo especificado de tamaños de partícula, y una cantidad máxima de contaminantes particulares.

La presencia de contaminantes y/o impurezas en las superficies de las microesferas de vidrio puede provocar que las células de la sangre se adhieran a las microesferas e impacten en la funcionalidad y consistencia del elemento de prueba. Por ejemplo, pueden aparecer carbonato de sodio y aceites en la superficie de las microesferas de vidrio como un subproducto de su fabricación. Para eliminar estos y otros contaminantes de la superficie de las microesferas de vidrio suministradas, se realiza un lavado con ácido ejemplar en el paso **202**, incluyendo enjuagar las microesferas de vidrio en agua destilada. Se puede realizar un lavado adicional alternativo que incluya un lavado cáustico, antes o después del lavado con ácido, y un paso de enjuagado usando agua destilada. En el paso **203**, las microesferas lavadas se secan en un horno. Cabe señalar que los lavados cáustico y con ácido, y el paso de secado, son bien conocidos y familiares para los expertos en la técnica. Estos pasos de lavado no son esenciales para la presente invención y pueden reemplazarse con procedimientos de limpieza y secado igualmente eficaces. Tales otros procedimientos se consideran equivalentes y sustitutos intercambiables para los pasos de lavado y secado descritos en la presente e incluidos en las reivindicaciones siguientes. En el paso **204**, las microesferas de vidrio son cribadas o tamizadas para separar cualquier grumo residual.

En el paso **205**, las microesferas de vidrio son probadas entonces para las tasas de flujo usando un medidor Hall Flow, que es un embudo de acero calibrado estandarizado, o un aparato similar. En este punto, puede requerirse una tasa de flujo mínima dependiendo de los procesos de fabricación, en particular, de las herramientas usadas para llenar el elemento de prueba de aglutinación en columna **101**. Para aumentar la consistencia de las tasas de flujo de microesferas a través de los lotes, los lotes que se han sometido a los pasos de preparación descritos anteriormente pueden categorizarse de acuerdo con sus tasas de flujo medidas. Para lograr la consistencia en las tasas de flujo a través de los lotes, pueden mezclarse juntos. Por ejemplo, dos lotes pueden colocarse en un contenedor dimensionado apropiadamente y mezclarse manualmente usando una cuchara o los dos lotes pueden fluirse a través de un tamiz.

En el paso **206**, se mezclan nanopartículas inertes con las microesferas de vidrio lavadas para mejorar las tasas de flujo de las microesferas de vidrio lavadas. De acuerdo con la presente realización, se utiliza sílice ahumado hidrófilo, que comprende alrededor del 99% o más de SiO_2 por peso, formada como aglomerados encadenados de partículas de SiO_2 esféricas. El sílice ahumado es un producto comercial común disponible de varios fabricantes, por ejemplo, Evonik Degussa Corporation, Cabot Corporation, Wacker Chemie-Dow Coming y otros. Más específicamente, y de acuerdo con una realización, se usa la Marca Aerosil® 380 de sílice ahumado como la fuente de nanopartículas mezcladas con las microesferas de vidrio.

Todavía en referencia al paso **206**, la mezcla de las microesferas de vidrio y sílice ahumado puede realizarse de acuerdo con la siguiente realización, como un ejemplo. Se coloca una cantidad predeterminada de microesferas de vidrio, por ejemplo alrededor de 20 kg, en un mezclador en V Patterson-Kelley. Se añade una pequeña cantidad de partículas de sílice ahumado, por ejemplo alrededor de 0,2 g, al mezclador en V y el mezclador

en V se hace funcionar entonces durante alrededor de tres minutos a alrededor de 24 revoluciones por minuto (RPM). Este paso permite que las nanopartículas de sílice ahumado se mezclen sustancial y uniformemente con las microesferas de vidrio. La cantidad de sílice ahumado añadido es preferiblemente de alrededor del 0,0001% a alrededor del 1,0% por peso, más preferiblemente de alrededor del 0,0005% a alrededor del 0,1% por peso, e incluso más preferiblemente de alrededor del 0,0005% a alrededor del 0,0015% por peso, lo que proporciona tasas de flujo de microesferas de vidrio adecuadas durante la fabricación del elemento de prueba.

La FIG. 3 ilustra el proceso de mezclado. Durante el mezclado, la dureza de las microesferas de vidrio **301** es suficiente para romper los aglomerados de sílice ahumado **306** enredados mecánicamente en agregados **307** tridimensionales sustancialmente más pequeños, dispersando eficazmente el sílice ahumado entre las microesferas de vidrio, en donde los agregados tienen un tamaño de alrededor de 0,1 μm a alrededor de 0,2 μm . Los agregados **307** están compuestos ellos mismos de partículas primarias fusionadas, en donde cada una de las partículas primarias tiene un tamaño de alrededor de 7 nm de diámetro, que se adhieren a la superficie de las microesferas de vidrio en forma agregada e interrumpen la atracción física entre las microesferas de vidrio. Considerando la partícula primaria de 7 nm y la microesfera de vidrio de 80 μm como se han descrito anteriormente, la proporción diámetro/tamaño de la microesfera de vidrio con la nanopartícula primaria de acuerdo con esta realización ejemplar es de alrededor de 11.429.

En base al mezclado anteriormente descrito de nanopartículas inertes con las microesferas de vidrio, se proporciona un aumento significativo en las tasas de flujo. en referencia a la FIG. 4, se recogieron datos comparativos sobre un número de lotes en donde las tasas de flujo medidas aumentan desde una media de alrededor de 0,84 g/s (gramos por segundo) para microesferas de vidrio lavadas a una media de alrededor de 1,05 g/s, para microesferas lavadas que tienen añadidas nanopartículas inertes. Cabe señalar que el uso de un mezclador en V para mezclar partículas secas es bien conocido y familiar para los expertos en la técnica. El equipo, cantidades, duraciones y otros pasos de mezclado particulares descritos en la presente pueden reemplazar son técnicas de mezclado conocidas igualmente eficaces y por lo tanto se considera que están incluidas en las reivindicaciones siguientes.

La FIG. 3 ilustra el efecto resultante de las nanopartículas intercaladas que contribuyen a la tasa de flujo mejorada de las microesferas de vidrio lavadas. Inicialmente, la superficie de una microesfera de vidrio **301** lavada están en contacto directo con la superficie de una microesfera de vidrio colindante, como se muestra en **304**. Esto provoca que las microesferas de vidrio se adhieran entre sí debido a las fuerzas de cohesión como las fuerzas de cohesión físicas por ejemplo, Van der Waals, fuerzas electrostáticas) u otras fuerzas de cohesión químicas provocadas por la proximidad cercana de las microesferas de vidrio colindantes. Mezclando los aglomerados de sílice ahumado **306** con las microesferas de vidrio **302**, las nanopartículas agregadas se rompen en los agregados **307** y se adhieren a la superficie de las microesferas de vidrio **303** lavadas y, en efecto, reemplazan las fuerzas de atracción entre microesferas de vidrio colindantes con fuerzas de adhesión subsidiarias. Es decir, las nanopartículas de sílice ahumado actúan para separar las microesferas de vidrio lavadas, como se muestra en **305**, y reducen las fuerzas de cohesión entre las microesferas de vidrio **304** lavadas. Así, las nanopartículas mantienen una separación entre las microesferas de vidrio, lo que resulta en adhesión reducida entre las microesferas y en tasas de flujo aumentadas. La fluidez aumentada de las microesferas de vidrio ayuda en el procedimiento de llenado de columnas aumentando la fluidez de las microesferas de vidrio y reduciendo los cuellos de botella y el tiempo de inactividad durante la operación de llenado de columnas. La FIG. 4 muestra una tabla de las tasas de flujo de microesferas de vidrio en tres puntos diferentes en el proceso de tratamiento de las microesferas de vidrio, como se ha recibido, después del lavado, y después del mezclado con sílice ahumado.

Tras la operación de llenado de columnas cuando se dispensan el reactivo de aglutinación acuoso y las microesferas de vidrio/nanopartículas en cada una de las columnas de prueba como parte de la fabricación del elemento de prueba, las fuerzas de atracción creadas entre las partículas de sílice ahumado y las microesferas de vidrio se difunden fácilmente y las nanopartículas se separan en la solución. Como resultado, las nanopartículas permiten que se mantengan tasas de flujo adecuadas durante el procedimiento de llenado pero no interfieren con el resto de la fabricación del elemento de prueba o protocolo de prueba pretendido debido a su tamaño relativamente pequeño.

LISTA DE PARTES PARA LAS FIGS. 1-4

- 100 aplicación de microesferas de vidrio con nanopartículas añadidas
- 101 elemento de prueba
- 102 microesferas de vidrio
- 103 columnas de prueba
- 104 reactivo acuoso
- 105 muestra de sangre
- 106 centrifugadora
- 107 microesferas de vidrio vertidas
- 108 muestra de sangre descendida

| | | |
|----|-----|--|
| | 109 | muestra de sangre no descendida |
| | 110 | reacciones de aglutinación de columnas |
| | 111 | sustrato |
| | 112 | matriz lineal |
| 5 | 201 | paso - recibir las microesferas de vidrio |
| | 202 | paso - lavar las microesferas de vidrio |
| | 203 | paso - secar las microesferas de vidrio |
| | 204 | paso - cribar las microesferas |
| | 205 | paso - probar y mezclar las microesferas de vidrio |
| 10 | 206 | paso - mezclar las microesferas de vidrio con sílice ahumado |
| | 301 | microesferas de vidrio lavadas |
| | 302 | mezclado de las microesferas de vidrio y el sílice ahumado |
| | 303 | microesferas de vidrio con nanopartículas adheridas |
| | 304 | superficie de contacto de las microesferas de vidrio |
| 15 | 305 | superficies de las microesferas de vidrio separadas por nanopartículas |
| | 306 | aglomerados de nanopartículas |
| | 307 | agregados de nanopartículas |

20 La descripción escrita usa ejemplos para describir la invención, incluyendo el mejor modo, y también para permitir a cualquier experto en la técnica poner en práctica la invención, incluyendo hacer y usar cualquier aparato o sistema y realizar cualquiera de los métodos incorporados. El alcance patentable de la invención se define por las reivindicaciones siguientes, y puede incluir otros ejemplos que se pongan en práctica por los expertos en la técnica. Tales otros ejemplos se pretende que estén dentro del alcance de las reivindicaciones siguientes si tienen elementos estructurales que no difieren del lenguaje literal de las reivindicaciones, o si incluyen elementos estructurales equivalentes con diferencias insubstanciales del lenguaje literal de las reivindicaciones.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Reivindicaciones

- 5 1. Un método de fabricación de microesferas de vidrio como se usan en un elemento de prueba de inmunodiagnóstico, el método comprendiendo los pasos de:
- 10 lavar una pluralidad de microesferas de vidrio micronizadas;
colocar la pluralidad de microesferas de vidrio lavadas en un aparato de mezclado;
colocar una cantidad de partículas inertes en el aparato de mezclado, en el que las microesferas de vidrio y las nanopartículas están hechas de sustancialmente el mismo material; y
mezclar juntas la pluralidad de microesferas de vidrio y las nanopartículas inertes usando el aparato de mezclado, de tal manera que las nanopartículas inertes se adhieran al exterior de dichas microesferas para permitir que fluyan las mismas después de dicho paso de mezclado.
- 15 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la pluralidad de microesferas de vidrio cada una comprende sustancialmente al menos alrededor del 85% de SiO₂.
- 20 3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la pluralidad de microesferas de vidrio comprenden sustancialmente microesferas de vidrio de borosilicato que comprenden un tamaño de entre alrededor de 50 -120 µm de diámetro.
- 25 4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el paso de colocar nanopartículas inertes en el aparato de mezclado comprende colocar una cantidad de nanopartículas sustancialmente equivalente a alrededor del 0,0001% a alrededor del 1,0% por peso entre las nanopartículas inertes y las microesferas de vidrio.
- 30 5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el paso de colocar nanopartículas inertes en el aparato de mezclado comprende colocar nanopartículas que tienen un tamaño de aglomerado sustancialmente equivalente a alrededor de 1 µm.
- 35 6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el paso de mezclar juntas la pluralidad de microesferas de vidrio y las nanopartículas inertes incluye reducir el tamaño de las nanopartículas inertes a entre alrededor de 0,1 a 0,2 µm en agregado, cada agregado comprendido de una pluralidad de partículas primarias.
- 40 7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el paso de lavar comprende usar un lavado de ácido, o una combinación de un lavado cáustico y un lavado de ácido.
- 45 8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además el paso de dispensar la pluralidad de microesferas de vidrio y las nanopartículas inertes mezcladas en al menos una columna de prueba de un elemento de prueba de inmunodiagnóstico y añadir al menos un reactivo acuoso en la al menos una columna de prueba.
- 50 9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende además el paso de añadir una muestra al al menos una columna de prueba y centrifugar la columna de prueba para crear una reacción de aglutinación entre dicho al menos un reactivo acuoso y dicha muestra.
- 55 10. Un elemento de prueba de inmunodiagnóstico que comprende:
- un sustrato plano;
una pluralidad de columnas de prueba soportadas por dicho sustrato plano, dichas columnas de prueba estando dispuestas en una matriz lineal en la que cada una de dichas columnas de prueba contiene una pluralidad de microesferas de vidrio micronizadas y una cantidad preseleccionada de nanopartículas inertes, en el que las nanopartículas están formadas de sustancialmente el mismo material, y en el que cada una de dicha pluralidad de columnas de prueba contienen además al menos un reactivo acuoso y en el que las microesferas de vidrio comprenden borosilicato teniendo un tamaño de entre alrededor de 50 -120 µm de diámetro.
- 60 11. El elemento de prueba de la reivindicación 10, en el que cada una de dicha pluralidad de columnas de prueba está hecha de un material sustancialmente claro y rígido.
- 65 12. El elemento de prueba de la reivindicación 10, en el que las nanopartículas inertes comprenden sílice ahumado.
13. El elemento de prueba de la reivindicación 10, en el que la cantidad preseleccionada de nanopartículas inertes comprende de alrededor del 0,0001% a alrededor del 1,0% del peso de las microesferas de vidrio.

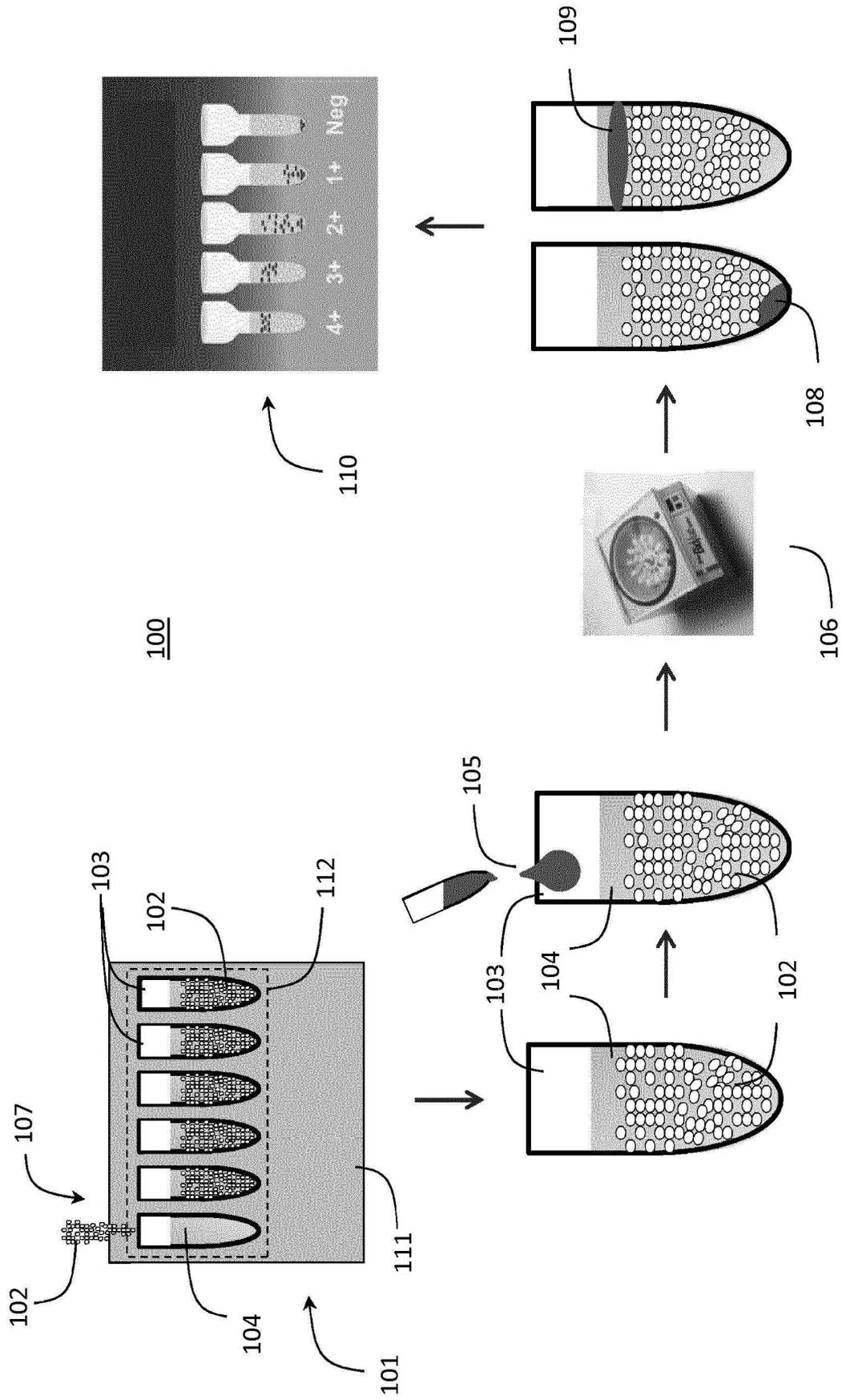


FIG. 1

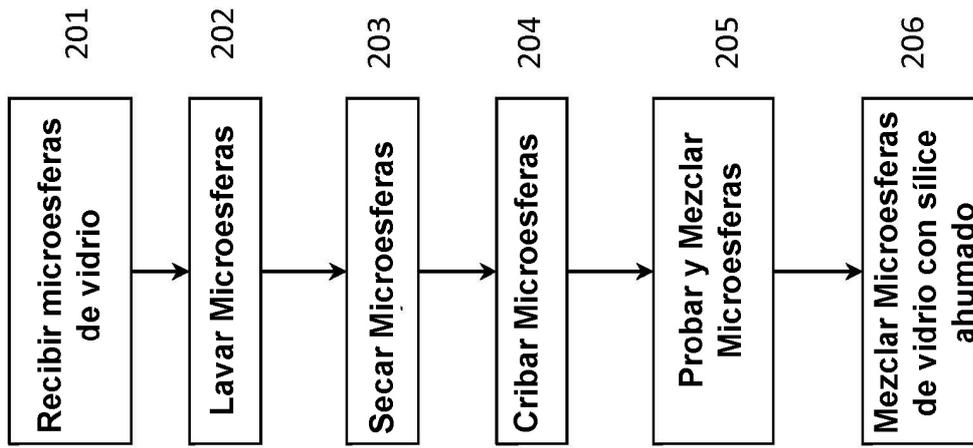


FIG. 2

| Microesferas de Vidrio | Tasa de Flujo Media (g/s) |
|------------------------|---------------------------|
| Como se recibieron | 1.19 |
| Lavadas | 0.84 |
| Mezcladas con Aerosil | 1.05 |

FIG. 4

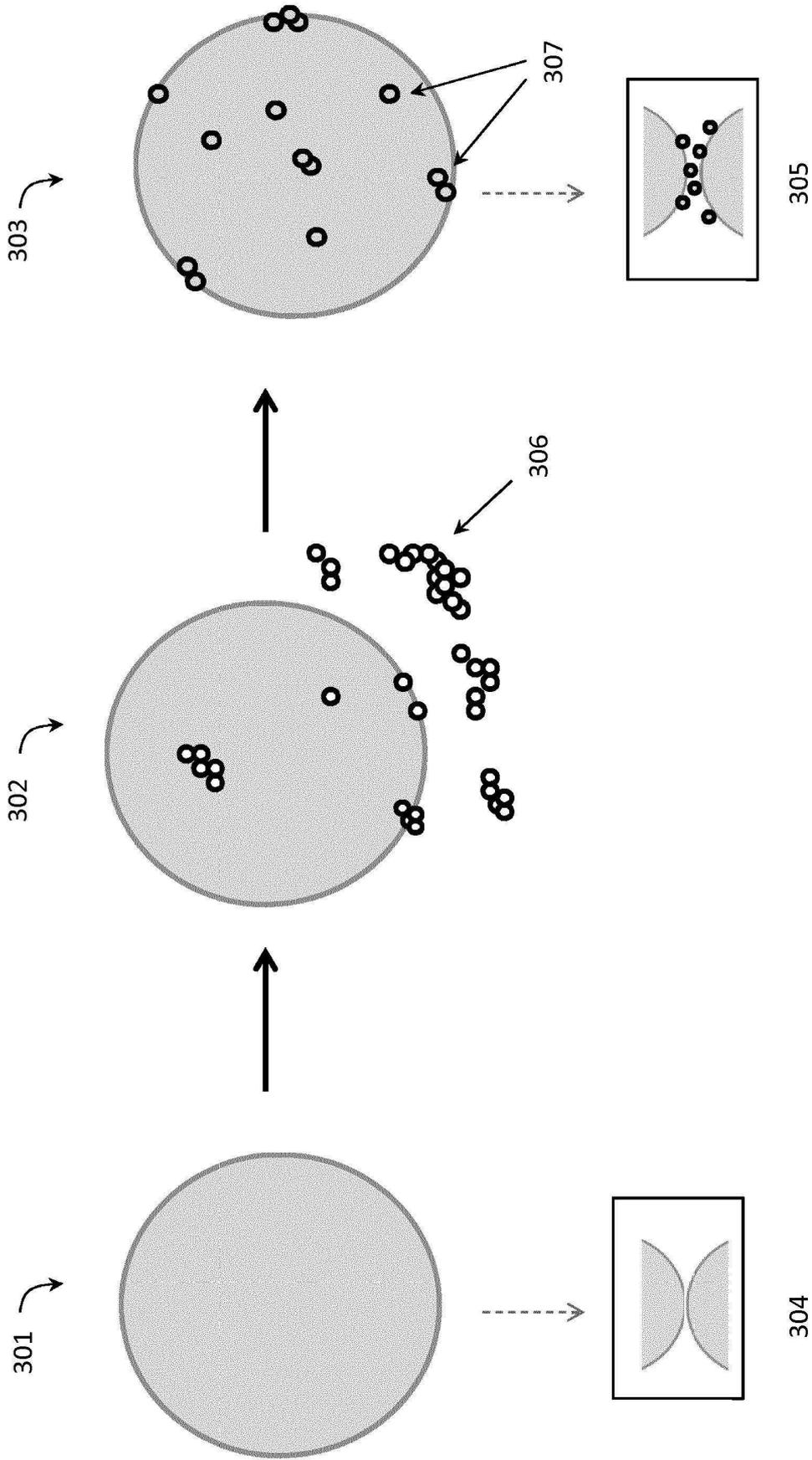


FIG. 3