

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 206**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.03.2013 PCT/IB2013/051802**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.10.2013 WO13144743**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2013 E 13722528 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.08.2016 EP 2830768**

54 Título: **Dispositivo y método para análisis de gota de fluido seco**

30 Prioridad:

31.03.2012 WO PCT/IB2012/051578

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

28.11.2016

73 Titular/es:

DBS SYSTEM SA (100.0%)

Route des Avouillons, 4

1196 Gland, CH

72 Inventor/es:

MAILLEFER, DIDIER;

THOMAS, AURÉLIEN;

DEGLON, JULIEN y

DUMONT, JULIEN

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 592 206 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 y método para análisis de gota de fluido seco

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un dispositivo y a un método para recolectar, tratar y analizar muestras biológicas. Ésta se refiere de forma más precisa a análisis de gotas de fluido seco, por ejemplo, a análisis de gota de sangre seca (GSS)

Estado de la técnica

En la década pasada, el análisis de GSS ha disfrutado de un crecimiento de popularidad como un procedimiento de muestreo alternativo en la comunidad bioanalítica, clínica y farmacéutica. En efecto, el GSS ofrece numerosas ventajas sobre la recolección convencional de muestras de sangre completa, plasma o suero. Más aún, el procedimiento es claramente menos invasivo y económico en términos de recolección, envío y almacenamiento de la muestra. Debido a su facilidad, la recolección de GSS puede llevarse a cabo después de un pequeño pinchazo en el dedo en un entorno no hospitalario con un mínimo entrenamiento por técnicos o incluso por los pacientes mismos. Más aún, el proceso de muestreo de GSS no requiere el uso de anticoagulante o separación de plasma y asegura una mejor estabilidad de los componentes durante el traslado y almacenamiento sin refrigeración. Por último, el proceso de GSS reduce el riesgo de infección por patógenos tales como SIDA o hepatitis a un mínimo. Desde su introducción para detección de Fenilcetonuria en recién nacidos, la forma de muestreo de GSS se ha aplicado de forma exitosa a múltiples programas de detección de desórdenes metabólicos en neonatos y, más recientemente, en la monitorización de estudios agentes terapéuticos, farmacocinéticos y toxicocinéticos. Estas ventajas combinadas hacen del procedimiento GSS una herramienta amigable para el paciente para la recolección de sangre, especialmente en poblaciones de pacientes problemáticos y vulnerables. La facilidad del proceso puede también ayudar en el reclutamiento de sujetos (humanos y animales) para estudios preclínicos y clínicos.

Sin embargo, el análisis de GSS en el estado de la técnica muestra algunas desventajas. El papel de filtro es un soporte pasivo para la recolección de sangre. El análisis directo de plasma o las mediciones de volumen precisas para análisis cuantitativos requieren manipulaciones autónomas que son consumidoras de tiempo y dinero para el usuario.

La patente US 6.036.659 (Ray *et al.*) divulga un dispositivo utilizado en el análisis de un componente biológico en una muestra de sangre u orina seca obtenida de un organismo vivo para su recolección, transporte, almacenamiento, procesamiento (por ejemplo, separación de células del suero) y compatibilidad con análisis de laboratorio de una muestra biológica. Este dispositivo está particularmente adaptado para recolección de una muestra de sangre completa, permitiendo la separación de las células de sangre del suero o plasma de la sangre, secando la muestra de suero o plasma de la sangre sobre el dispositivo, transportando la muestra de suero o plasma de la sangre recolectada y secada hasta un laboratorio u otra instalación para su análisis, y extrayendo un analito de interés de la muestra para determinar la presencia o ausencia del analito o, si está presente, la concentración del mismo.

Aunque es muy interesante, este dispositivo muestra, sin embargo, algunas desventajas. Por ejemplo, no es posible llevar a cabo sobre el mismo dispositivo diversos muestreos o transformaciones bioquímicas de analitos contenidos en el fluido. Este dispositivo, además, no es compatible con las tarjetas de muestreo de gota seca más convencionales, incluyendo el papel comercial #903® (Whatman, Inc., New Jersey, USA) o papeles de filtro tratados, tales como el papel comercial FTA y FTA Elute (Whatman, Inc., New Jersey, USA).

Descripción general de la invención

La presente invención ofrece varias mejoras con respecto al estado de la técnica.

Éste se refiere a un dispositivo y a un método para utilizar dicho dispositivo, como el definido en las reivindicaciones.

Entre otras características, la invención permite el uso de tarjetas de muestreo de gota seca convencionales que pueden incorporar medios de almacenamiento de celulosa y / o sin celulosa. La invención proporciona una solución basada en un laboratorio en un chip para el muestreo múltiple y directo, control del volumen, filtración del fluido, reacciones bioquímicas, transferencia de muestra y generación de gota seca sobre las tarjetas convencionales y comerciales para gota de fluido seco. Dentro de un soporte integrado todo en uno, ésta permite el proceso completo requerido para asegurar un análisis cuantitativo de sangre, plasma o cualesquiera otros fluidos, basado en muestreo en material de membrana de celulosa, no celulosa, absorbente o no absorbente. Como ejemplo, la invención puede soportar los soportes de muestreo de gota seca más convencionales, incluyendo el papel comercial #903® (Whatman, Inc., New Jersey, USA) goteado en matriz seca Bond Elut (Agilent, Alemania) o papeles de filtro tratados, tales como el papel comercial FTA y FTA Elute o tarjetas DMPK A, B o C (Whatman, Inc., New Jersey, USA).

El dispositivo según la invención comprende un elemento de soporte de tarjeta que incluye por lo menos las siguientes características:

- una cavidad abierta ubicada sobre una superficie de dicho elemento de soporte de tarjeta y definida por una superficie inferior rodeada por un separador,

- un canal de fluido dimensionado con el fin de inducir una acción capilar, y definido por una salida ubicada en dicha superficie inferior y una entrada ubicada sobre otra superficie de dicho elemento de soporte de la tarjeta,

5 estando adaptado dicho separador para soportar y sostener una tarjeta de muestreo que, cuando está presente, cubre dicha cavidad.

En una realización preferida de la invención, el elemento de soporte de la tarjeta comprende varios canales de fluido.

10 En otra realización, el dispositivo comprende una tapa, la cual está adaptada para ser fijada al separador, por ejemplo mediante enganche. La tapa, cuando está fijada al separador, está además diseñada para poner la tarjeta flexible en contacto con la salida.

Descripción detallada de la invención

La invención se entenderá mejor a continuación, en particular con los ejemplos no limitativos ilustrados por las siguientes figuras.

15 La Figura 1 muestra una primera realización (sección transversal, vista lateral) del dispositivo según la invención que comprende un elemento de soporte de tarjeta con una tapa, en una fase en el cual la tapa no está fijada al elemento de soporte de la tarjeta.

La Figura 2 muestra otra realización de la invención con un elemento de soporte de tarjeta que incluye varios canales de fluido.

La Figura 3 muestra la misma realización de la Figura 1, pero con la tapa fijada al elemento de soporte de tarjeta.

20 Como se muestra en las figuras, se fija una tarjeta de muestreo flexible convencional o no convencional 5 a un elemento de soporte de la tarjeta 4, el cual incluye una cavidad definida por una superficie inferior rodeada por al menos un separador 1, el cual mantiene la tarjeta de almacenamiento por encima de la superficie inferior (véase la Figura 1). El elemento de soporte de la tarjeta 4 contiene por lo menos un canal de fluido 3 (véase también la Figura 2) definido entre una salida 7 ubicada en la superficie inferior y una entrada 2 ubicada en otra superficie del elemento de soporte de la tarjeta 4. Ventajosamente, el elemento de soporte de la tarjeta 4 contiene varios canales de fluido 3, los cuales están situados en línea para permitir muestras múltiples e independientes según el número de localizaciones para las gotas 8, alrededor de dichas salidas 7. Cada canal 3 está diseñado para producir una gota de fluido seca en el interior de esas localizaciones para las gotas 8. Los canales 3 pueden tener diferentes geometrías. Éstos pueden tener una forma lineal o curva. Preferiblemente, la sección, longitud y material del canal se eligen con el fin de inducir un efecto capilar, es decir, una fuerza de impulsión, sobre la muestra de fluido que está ingresando en el canal 3.

35 En funcionamiento, se pone en contacto un fluido a analizar con la(s) entrada(s) 2 (véase las Figuras 1 y 2). Por lo menos una gota del fluido se trasladará entonces, mecánicamente o por capilaridad a través del canal 3. Se debería poner en evidencia que se puede añadir al dispositivo cualquier elemento adecuado, por ejemplo mecánico, para facilitar y / o aumentar el movimiento del fluido a través de la membrana de filtro de entrada 2 o a lo largo del canal 3. El tiempo de traslado habitual a través del (de los) canal(es) es de unos pocos segundos. Ventajosamente, la entrada 2 está provista de una membrana de filtro que, por ejemplo, puede filtrar el fluido y separar los glóbulos rojos de la sangre. De un modo interesante, se pueden absorber enzimas, anticuerpos o químicos en esta membrana para tratar el fluido biológico antes de su transferencia a través del canal 3.

40 El canal 3 está calibrado de forma ventajosa para aceptar un volumen predeterminado de fluido (típicamente 5 – 50 μ L). Se puede modificar este volumen según el análisis requerido. Más aún, el canal 3 puede incorporar diferentes funcionalidades *in situ* para proporcionar propiedades bioquímicas específicas. De este modo, se pueden introducir absorbentes químicos, anticuerpos o enzimas en el canal 3 para proporcionar un enriquecimiento y / o modificación de un analito objetivo. Como ejemplo, se puede introducir una enzima, como citocromo P450 o trepsina para asegurar el metabolismo de fármacos en fase I y la digestión de proteínas, respectivamente.

45 Simultáneamente, también se puede utilizar el canal 3 para la separación de moléculas de interés según su afinidad hidrofóbica, hidrofílica, al intercambio aniónico y catiónico, al metal e inmune, por ejemplo. También se pueden asignar diferentes dimensiones de propiedades químicas a diferentes secciones de un mismo canal 3 para subconjuntos de moléculas enriquecidas de manera serial según diferentes propiedades químicas. El fraccionamiento del canal 3 puede proporcionar la posibilidad de combinar tratamientos secuenciales de analitos. Una primera porción puede asumir el proceso de enriquecimiento para un objetivo específico o subclase de analitos, mientras que una segunda porción puede inducir la modificación bioquímica o química de ese subconjunto de analitos.

- En otra configuración, se pueden llevar a cabo estos diferentes pretratamientos de la muestra sobre cada canal 3. De esta manera, se puede llevar la misma gota de fluido a múltiples localizaciones de gotas secas 8 teniendo, cada una, una diferente firma molecular (Figura 2). Esta característica es particularmente interesante asociada a la investigación clínica, al permitir la posibilidad de aumentar la selectividad y sensibilidad del análisis. Cuando ha alcanzado la salida 7, el fluido preferiblemente forma un objeto en forma de domo estático. Un objeto como tal resulta del volumen calibrado predefinido de fluido y de las fuerzas capilares en la salida 7.
- 5 A continuación, se impulsa la tarjeta flexible 5 hacia la salida 7, ya sea empujando directamente la tarjeta 5 con los dedos, o mediante una tapa 6 (véase las Figuras 1 y 3) que podría estar enganchada al elemento de soporte de la tarjeta 4.
- 10 Se puede utilizar cualquier otro medio adecuado de empuje para poner en contacto la tarjeta 5 con la salida 7. Por ejemplo, se puede utilizar una banda unida al elemento de sujeción 4 para deslizar manualmente del elemento de soporte 4 a lo largo de la tapa 6. Esta operación permite que se lleve la tapa 6 enfrente del reborde, lo cual asegura el contacto entre la tarjeta 5 y el fluido en la salida 7.
- 15 El contacto entre la tarjeta 5 y el fluido en la salida 7 genera una gota de fluido seca sobre la tarjeta 5. Ventajosamente, la salida 7 puede formar un ángulo recto con una abertura orientada hacia la tarjeta 5.
- Como se mencionó previamente, la tapa 6 puede ser reemplazada por otros medios de empuje tales como un dedo. Sin embargo, ésta ofrece una protección para la muestra, particularmente para el transporte de la tarjeta de papel al laboratorio.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de muestreo de gotas de fluido seco que comprende un elemento de soporte de tarjeta (4) que incluye por lo menos las siguientes características:
- 5 - una cavidad abierta ubicada sobre una superficie de dicho elemento de soporte de tarjeta (4) y definida por una superficie inferior rodeada por al menos un separador (1),
- un canal de fluido (3) definido entre una salida (7) ubicada en dicha superficie inferior y una entrada (2) ubicada sobre otra superficie de dicho elemento de soporte de la tarjeta (4), estando además diseñado dicho canal (3) con el fin de inducir una acción capilar sobre un fluido que se mueve en el interior del canal (3), estando adaptado dicho separador (1) para soportar y sostener una tarjeta de muestreo (5) que, cuando está presente, cubre dicha cavidad.
- 10 2. Dispositivo según la reivindicación 1, en el cual dicho elemento de soporte de la tarjeta (4) comprende varios canales de fluido (3).
3. Dispositivo según la reivindicación 1 ó 2 que comprende una tapa (6) que está adaptada para ser fijada al separador (1), por ejemplo, mediante enganche; estando además diseñada dicha tapa (6), cuando está fijada a dicho separador (1), para poner la tarjeta (5) en contacto con la salida (7).
- 15 4. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el cual cada entrada está provista de un filtro.
5. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el cual el (los) canal(es) (3) está(n) funcionalizados bioquímicamente.
- 20 6. Dispositivo según la reivindicación 5 que comprende varios canales (3) que están funcionalizados bioquímicamente de una manera diferente unos de otros.
7. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el cual dicha tarjeta (5) es flexible.
8. Un método para utilizar un dispositivo como el definido en cualquiera de las reivindicaciones anteriores y que comprende las siguientes etapas sucesivas:
- fijación de una tarjeta (5) en dicho(s) separador(es) (1),
- 25 - puesta en contacto de un volumen predefinido de un fluido a recolectar con dicha entrada (2),
- espera hasta que dicho fluido ha alcanzado dicha salida (7),
- impulsión de dicha tarjeta (5) sobre dicha salida (7) con el fin de obtener una gota de fluido seca sobre dicha tarjeta (5).
- 30 9. Método según la reivindicación 8 en la cual dicha tarjeta (5) es impulsada hacia dicha salida (7) con una tapa (6).
10. Un método según la reivindicación 8 ó 9, en el cual dichos canales están fraccionados para combinar de forma serial diferentes enriquecimientos, separaciones y transformaciones de muestras / moléculas.

Figura 1

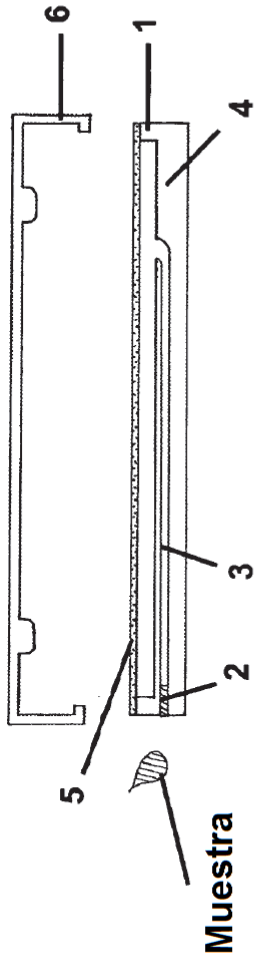


Figura 2

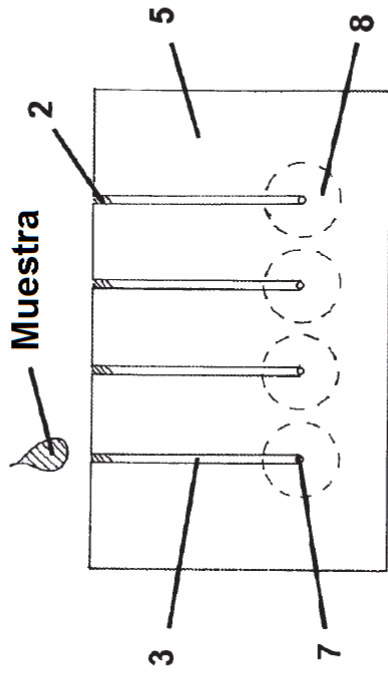


Figura 3

