

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 704 857**

51 Int. Cl.:

**C09K 19/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.06.2013 PCT/US2013/047518**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.01.2014 WO14004444**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2013 E 13808640 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2018 EP 2867330**

54 Título: **Composiciones y métodos para la evaluación de la mezcla de líquidos**

30 Prioridad:

**27.06.2012 US 201261665016 P**

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

**20.03.2019**

73 Titular/es:

**SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.  
(100.0%)  
511 Benedict Avenue  
Tarrytown, NY 10591, US**

72 Inventor/es:

**SNYDER, JASON;  
CARTER, JR., RICHARD, H.;  
NICHOLS, PATRICIA y  
DUNFEE, WILLIAM, D.**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 704 857 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

Composiciones y métodos para la evaluación de la mezcla de líquidos

## Antecedentes

5 La presente invención se refiere a composiciones, métodos y kits para la evaluación del nivel de mezcla de reactivos líquidos.

Los dispositivos de manipulación de líquidos automatizados de gran volumen pueden procesar de cientos a miles de reacciones por hora. Estos sistemas deben mantener condiciones de mezcla de reacción aceptables para capturar de forma apropiada la velocidad de las reacciones químicas y/o el grado de interacciones macromoleculares. Si una mezcla de reacción no se mezcla lo suficiente, se podría producir un resultado erróneo, y aún así creíble.

10 Existe la necesidad de una evaluación rápida, conveniente y directa del nivel de mezcla de reactivos líquidos, en particular en dispositivos de manipulación de líquidos automatizados de gran volumen.

## Sumario

15 La invención se refiere a una composición que comprende una solución acuosa de un colorante orgánico de peso molecular en el intervalo de aproximadamente 300 a aproximadamente 1000 y un material de mejora de la densidad. Una cantidad del material de mejora de la densidad en la solución acuosa es suficiente para conseguir una densidad de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,3 g/ml. La composición tiene una viscosidad de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 5,0 centipoise. El colorante orgánico es un colorante azoico aromático, o un colorante de triarilmetano, o se selecciona entre el grupo que consiste en Erioglaucina, Ponceau S, Rojo Allura, Rojo Ácido, Verde Malaquita, y Amaranto.

20 En lo que respecta al término "aproximadamente", por la presente se llama la atención de los lectores sobre la declaración esclarecedora de las páginas 13, 14 en el párrafo vinculante [0038].

25 Algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento se refieren a una composición que comprende una solución acuosa de un colorante azoico aromático de peso molecular en el intervalo de aproximadamente 300 a aproximadamente 1000 y un monosacárido o disacárido. La cantidad de monosacárido o disacárido en la solución acuosa es suficiente para conseguir una densidad de aproximadamente 1,1 a aproximadamente 1,2 g/ml. La composición tiene una viscosidad de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 5,0 centipoise.

30 La invención se refiere además a un método de evaluación de la idoneidad de un dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción. Se forma una capa de agua en un recipiente adyacente a una capa de una composición que comprende una solución acuosa de un colorante azoico aromático de peso molecular en el intervalo de aproximadamente 300 a aproximadamente 1000 y un material de mejora de la densidad. La cantidad de material de mejora de la densidad en la solución acuosa es suficiente para conseguir una densidad de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,3 g/ml. La composición tiene una viscosidad de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 5,0 centipoise. Las capas se someten a mezcla usando el dispositivo de mezcla de ensayo con un nivel de intensidad y una duración predeterminados. Se mide una primera absorbancia de la mezcla a una longitud de onda predeterminada. La mezcla se somete a mezcla usando un dispositivo de mezcla de control con un nivel de intensidad y una duración que maximizan la mezcla de la mezcla y se mide una segunda absorbancia de la mezcla a una longitud de onda predeterminada. Se determina la proporción de la primera absorbancia con respecto a la segunda absorbancia y una proporción fuera del intervalo de 0,95 a 1,05 indica que la capacidad del dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción con el nivel de intensidad y la duración predeterminados no es adecuada.

45 La invención se refiere además a un método de evaluación de la idoneidad de un dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción. Se forma una capa de agua en un recipiente adyacente a una capa de una composición que comprende una solución acuosa de un colorante azoico aromático de peso molecular en el intervalo de aproximadamente 300 a aproximadamente 1000 y un material de mejora de la densidad. La cantidad del material de mejora de la densidad en la solución acuosa es suficiente para conseguir una densidad de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,1 g/ml. La composición tiene una viscosidad de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 5,0 centipoise. La composición que se usa en el dispositivo de mezcla de control es la misma composición que se usa en el dispositivo de mezcla de ensayo. Una proporción de la primera absorbancia con respecto a la segunda absorbancia fuera del intervalo de  $1 \pm 0,05$  indica que la capacidad del dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción con un nivel de intensidad y una duración predeterminados no es adecuada.

## Descripción detallada de realizaciones específicas

### Composiciones

5 Algunos ejemplos de composiciones de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento son útiles en una técnica rápida para identificar una mezcla de reactivos menor de lo aceptable por parte de dispositivos de mezcla de manipulación de líquidos incluyendo dispositivos de mezcla de manipulación de líquidos automatizados, para evaluar de ese modo el rendimiento de mezcla de los dispositivos de manipulación de líquidos. La expresión "mezcla menor de lo aceptable" se refiere a un grado de mezcla que es menor que el necesario para conseguir el grado deseado de reacción tal como, por ejemplo, el que es necesario para conseguir un ensayo preciso para un analito de interés. Tales composiciones están básicamente exentas de reactivos que pudieran representar una amenaza para la salud y/o la seguridad del manipulador de las composiciones. De ese modo, las composiciones están básicamente exentas de sustancias que son cancerígenas o que requieren una o más indicaciones de riesgo y seguridad, indicaciones de peligro, pictogramas de peligro, y se enumeran como Sustancias de muy alta preocupación por parte, por ejemplo, del Registro, evaluación, autorización y restricción de compuestos químicos de la Unión Europea.

15 Algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen son en el presente documento se refieren a una composición que comprende una solución acuosa de un colorante orgánico y un material de mejora de la densidad. El colorante orgánico es soluble en agua o en un medio acuoso, lo que significa que el colorante orgánico exhibe una solubilidad (peso con respecto a volumen) en agua o en un medio acuoso a temperatura y presión ambiente de al menos un 90 %, o al menos un 91 %, o al menos un 92 %, o al menos un 93 %, o al menos un 94 %, o al menos un 95 %, o al menos un 96 %, o al menos un 97 %, o al menos un 98 %, o al menos un 99 %, o al menos un 99,5 %, o al menos un 99,6 %, o al menos un 99,7 %, o al menos un 99,8 %, o al menos un 99,9 %, o un 100 %, por ejemplo.

25 El colorante orgánico debería absorber luz en el intervalo visible y ser estable o resistente al decaimiento. En algunos ejemplos, el colorante orgánico exhibe una longitud de onda de absorbancia específica en el intervalo de aproximadamente 350 nm a aproximadamente 800 nm, o de aproximadamente 350 nm a aproximadamente 700 nm, o de aproximadamente 350 nm a aproximadamente 625 nm, o de aproximadamente 450 nm a aproximadamente 625 nm, o de aproximadamente 550 nm a aproximadamente 625 nm, por ejemplo. El colorante orgánico debería exhibir una baja toxicidad, lo que significa que el colorante orgánico no debería requerir ninguna de una o más de indicaciones de riesgo y seguridad, indicaciones de peligro, pictogramas de peligro, y se enumeran como Sustancias de muy alta preocupación por parte, por ejemplo, del Registro, evaluación, autorización y restricción de compuestos químicos de la Unión Europea. El colorante orgánico debería poder funcionar con un material de mejora de la densidad que se discute posteriormente.

35 El peso molecular del colorante orgánico está en el intervalo de aproximadamente 300 a aproximadamente 1000, o de aproximadamente 300 a aproximadamente 900, o de aproximadamente 300 a aproximadamente 800, o de aproximadamente 300 a aproximadamente 700, o de aproximadamente 300 a aproximadamente 600, o de aproximadamente 300 a aproximadamente 500, o de aproximadamente 400 a aproximadamente 1000, o de aproximadamente 400 a aproximadamente 900, o de aproximadamente 400 a aproximadamente 800, o de aproximadamente 400 a aproximadamente 700, o de aproximadamente 400 a aproximadamente 600, o de aproximadamente 400 a aproximadamente 500, o de 500 a aproximadamente 1000, o de aproximadamente 500 a aproximadamente 900, o de aproximadamente 500 a aproximadamente 800, o de aproximadamente 500 a aproximadamente 700, o de aproximadamente 500 a aproximadamente 600, por ejemplo. En algunos ejemplos, el colorante orgánico es un colorante de triarilmetano o un colorante azoico, por ejemplo, un colorante azoico aromático. El término "arilo" significa un radical orgánico obtenido a partir de un hidrocarburo aromático mediante la retirada de un átomo y que contiene uno o más anillos aromáticos, habitualmente de uno a cuatro anillos aromáticos. Algunos ejemplos incluyen, a modo de ilustración y no de limitación, un anillo aromático individual tal como, por ejemplo, fenilo (del benceno), y anillos aromáticos múltiples que están condensados tales como, por ejemplo, naftilo (del naftaleno), fenantrilo (del fenantreno), y antracilo (del antraceno), por ejemplo, uno o más de los anillos aromáticos pueden comprender uno o más sustituyentes que proporcionan la deslocalización de los electrones en los anillos aromáticos. Algunos ejemplos de tales sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, amino, sulfonato, e imino, por ejemplo.

50 Los colorantes de triarilmetano se pueden representar mediante la fórmula:  $(Ar)_3-C-R$  en la que los Ar pueden ser iguales o diferentes y son arilo o arilo sustituido, y R es un enlace interno que resulta de uno de los grupos arilo o un sustituyente en uno de los grupos arilo sustituidos, donde el sustituyente puede ser o no ser el que proporciona la deslocalización de los electrones en uno o más anillos aromáticos de los uno o más grupos arilo. La expresión "arilo sustituido" se refiere a un grupo arilo que tiene uno o más átomos de hidrógeno de uno o más anillos aromáticos o anillos aromáticos condensados reemplazados con otro átomo, que puede ser un átomo individual tal como un halógeno (cloruro, bromuro, fluoruro o yoduro) o parte de un grupo de átomos, que puede ser un grupo de átomos que forma una funcionalidad tal como, por ejemplo, un sustituyente que proporciona la deslocalización de electrones en uno o más anillos aromáticos de uno o más de los grupos arilo como se ha discutido anteriormente, o un heteroátomo de un grupo funcional tal como, por ejemplo, hidroxilo, o alcoxi, o un heteroátomo de un grupo que

imparte solubilidad en agua tal como, por ejemplo, sulfonato, sulfato, fosfato, amidina, fosfonato, carboxilato, hidroxilo, amina, éter, o amida. Para sustituciones en un anillo de fenilo o un anillo de arilo condensado, los sustituyentes pueden estar en cualquier orientación (es decir, orto, meta o para). El término "heteroátomo" se refiere a oxígeno, nitrógeno, azufre, o fósforo, por ejemplo.

5 Los colorantes azoicos se pueden representar mediante la fórmula:  $R'-N=N-R''$  en la que  $R'$  y  $R''$  son independientemente arilo o arilo sustituido. El arilo puede ser monoarilo (por ejemplo, fenilo), diarilo (por ejemplo, difenilo), o triarilo (por ejemplo, trifenilo). En algunos ejemplos, uno de  $R'$  o  $R''$  puede ser triarilalquilo tal como, por ejemplo, triarilmetilo (por ejemplo, trifenilmetilo), lo que da como resultado un colorante azoico de triarilmetano, por ejemplo.

10 En algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento, el colorante orgánico es, a modo de ilustración y no de limitación, Erioglaucina, Ponceau S, Rojo Allura, Rojo Ácido, Verde Malaquita, y Amaranto, y las sales de cualquiera de los anteriores, por ejemplo.

15 En algunos ejemplos, el colorante orgánico está presente en la composición en una cantidad que es suficiente para proporcionar una lectura de absorbancia que es lo suficientemente elevada para que un dispositivo de lectura de absorbancia tal como, por ejemplo, un espectrofotómetro, pueda obtener una lectura de absorbancia precisa y reproducible de la composición después de que la composición se mezcle completamente con la capa de agua. La cantidad de colorante orgánico en la composición depende, por ejemplo, de una o más de la naturaleza del colorante orgánico, la naturaleza del material de mejora de la densidad, y la naturaleza del dispositivo de mezcla. En algunos ejemplos, el colorante orgánico está presente en la composición en una cantidad de aproximadamente un 0,005 % a aproximadamente un 0,020 %, o de aproximadamente un 0,010 % a aproximadamente un 0,018 % (en peso) (g/ml).

20 Las composiciones de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento también contienen un material de mejora de la densidad. El material de mejora de la densidad es una sustancia que aumenta la densidad del medio acuoso que comprende el colorante orgánico. La naturaleza del material de mejora de la densidad depende de una o más de la naturaleza del colorante orgánico y la naturaleza del analizador, por ejemplo. La naturaleza del colorante orgánico y la naturaleza del material de mejora de la densidad son tales que el colorante orgánico permanece en solución en un medio acuoso que tiene una densidad de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento.

25 En algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento, el material de mejora de la densidad es un polihidroxicompuesto. En algunos ejemplos, el polihidroxicompuesto es un monosacárido o un disacárido. En algunos ejemplos, el monosacárido o disacárido se selecciona entre el grupo que consiste en sacarosa, fructosa, trehalosa, sacarosa, y una mezcla de dos o más de las mismas. En algunos ejemplos, el polihidroxicompuesto es un poliol que tiene de 3 a 10 átomos de carbono, o de 3 a 9 átomos de carbono, o de 3 a 8 átomos de carbono, o de 3 a 7 átomos de carbono, o de 3 a 6 átomos de carbono, o de 3 a 5 átomos de carbono, o de 3 a 4 átomos de carbono y de 2 a 10 grupos hidroxilo, o de 2 a 9 grupos hidroxilo, o de 2 a 8 grupos hidroxilo, o de 2 a 7 grupos hidroxilo, o de 2 a 6 grupos hidroxilo, o de 2 a 5 grupos hidroxilo, o de 2 a 4 grupos hidroxilo, o de 2 a 3 grupos hidroxilo, por ejemplo. En algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento, el poliol es glicerol, por ejemplo.

30 El material de mejora de la densidad debería impartir una densidad a la composición tal que la composición de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento forme una capa separada cuando se pone en contacto con una capa de agua y las capas permanezcan separadas hasta que se someten a mezcla. Sin embargo, la composición de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento no debería ser tan densa para que los componentes de la composición queden fuera de la solución o que un dispositivo de mezcla de manipulación de líquidos no pueda manipular la composición tal como, por ejemplo, la incapacidad de la composición a someterse a pipeteo en un dispositivo de manipulación de líquidos, por ejemplo. El material de mejora de la densidad está presente en el medio acuoso en una cantidad para conseguir una densidad que es lo suficientemente elevada para que una capa que comprende el material de mejora de la densidad permanezca separada de la capa de agua hasta que se aplique una intensidad de mezcla suficiente a la reacción, pero no tan elevada para que la composición de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento no se pueda manipular por parte del dispositivo de mezcla en el que se usa. En algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento, el material de mejora de la densidad está presente en la solución acuosa en una cantidad suficiente para conseguir una densidad de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,3 g/ml, o de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,2 g/ml, o de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,1 g/ml, o de aproximadamente 1,1 a aproximadamente 1,3 g/ml, o de aproximadamente 1,1 a aproximadamente 1,2 g/ml. En algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento, la composición tiene una viscosidad de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 5,0 centipoise, o de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,5 centipoise, o de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,0 centipoise, o de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 5,0 centipoise, o de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 4,5 centipoise.

En algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento, la composición puede incluir uno o ambos de un tampón y un conservante. El pH de la composición de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento está en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 11, o en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 10, o en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 9, o en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 8, o en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 7, o el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 6, o el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 6, o el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 7, por ejemplo. Se pueden usar diversos tampones para conseguir el pH deseado y mantener el pH durante la mezcla. Algunos tampones ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, acetato, borato, fosfato, carbonato, tris, barbital, PIPES, HEPES, MES, ACES, MOPS, BICINE, etilendiaminotetraacetato (EDTA) y las combinaciones de dos o más de los mismos, por ejemplo. El tampón particular empleado no es crítico, pero en una composición para un dispositivo de mezcla particular puede ser preferente uno u otro tampón. La cantidad de tampón en el medio acuoso es la suficiente para conseguir el pH deseado.

El medio también puede comprender uno o más conservantes tales como, pero no limitados a, azida sódica, sulfato de neomicina, PROCLIN® 300, PROCLIN® 950, y estreptomina, por ejemplo. Cualquiera de los materiales anteriores, si se empleara, está presente en una concentración o una cantidad suficiente para conseguir el efecto o la función conservante deseada. En algunos ejemplos, el conservante está presente en la composición en una cantidad (peso con respecto a volumen) de aproximadamente un 0,5 % a aproximadamente un 2,0 %, o de aproximadamente un 0,7 % a aproximadamente 1,3 % (en peso).

#### Métodos de empleo de las composiciones

Como se ha mencionado anteriormente, algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento se refieren a métodos para la evaluación de la idoneidad de un dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción. La expresión "evaluación de la idoneidad de un dispositivo de mezcla de ensayo" significa determinar si la mezcla conseguida por parte del dispositivo de mezcla de ensayo a un nivel de intensidad y una duración predeterminados es suficiente para una aplicación particular tal como, por ejemplo, para llevar a cabo una reacción química que incluye, por ejemplo, un ensayo para un analito. La expresión "dispositivo de mezcla de ensayo" se refiere a un dispositivo de mezcla para el que se cuestiona o se va a evaluar la idoneidad de mezcla.

El dispositivo de mezcla puede ser un dispositivo automatizado, semiautomatizado, o no automatizado y puede ser un dispositivo separado o parte de un aparato mayor para el que se requiere la mezcla de reactivos líquidos. El aparato mayor puede comprender al menos un dispositivo de mezcla, o al menos dos dispositivos de mezcla, o al menos tres dispositivos de mezcla hasta un máximo de aproximadamente 1000 o más dispositivos de mezcla, o un máximo de aproximadamente 500 dispositivos de mezcla, o un máximo de aproximadamente 400 dispositivos de mezcla, o un máximo de aproximadamente 300 dispositivos de mezcla, o un máximo de aproximadamente 200 dispositivos de mezcla, o un máximo de aproximadamente 100 dispositivos de mezcla. En algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento, el dispositivo de mezcla es parte de un analizador automatizado para una o ambas de la detección y la cuantificación de uno o más analitos o sustancias de interés. Como se ha mencionado anteriormente, los dispositivos de manipulación de líquidos automatizados de alto volumen pueden procesar de cientos a miles de reacciones por hora. Estos sistemas deben mantener unas condiciones de mezcla de reacción aceptables para capturar de forma apropiada la velocidad de las reacciones químicas y/o el grado de interacciones macromoleculares.

De acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento, se forma una capa de agua adyacente a una capa de una composición como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, en un recipiente. El término "adyacente" significa que las capas comparten al menos una superficie fronteriza tal como, por ejemplo, una capa de agua en la parte superior de una capa de la composición, o una capa de la composición en la parte superior de una capa de agua. En algunos ejemplos, se dispensa el agua en un recipiente y a continuación se dispensa la composición de un modo tal que la capa de agua yace sobre una capa de la composición. El volumen de agua empleado depende de una o más de la naturaleza del recipiente, la naturaleza del dispositivo de mezcla, y la cantidad de la composición empleada, por ejemplo. El volumen de agua es tal que es suficiente para producir un nivel aceptable de absorbancia después de que la composición se mezcle completamente con la capa de agua. La expresión "nivel aceptable de absorbancia" significa una lectura de absorbancia que es lo suficientemente elevada para que un dispositivo de lectura de absorbancia tal como, por ejemplo, un espectrofotómetro, pueda obtener una lectura de absorbancia precisa y reproducible de la composición después de que la capa de composición y la capa de agua se mezclen con un dispositivo de mezcla. En algunos ejemplos, para un recipiente que tiene un volumen total de aproximadamente 150 ml, el volumen de agua es de aproximadamente 120 ml a aproximadamente 145 ml, o de aproximadamente 130 ml a aproximadamente 140 ml, por ejemplo. El volumen de la composición empleado depende de una o más de la naturaleza del recipiente, la naturaleza del dispositivo de mezcla, y la cantidad de agua empleada, por ejemplo. El volumen de la composición es tal que es suficiente para producir un nivel aceptable de absorbancia después de que la capa que comprende la composición se mezcle completamente con la capa de agua. En algunos ejemplos, para un recipiente que tiene un volumen total de aproximadamente 150 ml, el volumen de

composición es de aproximadamente 2 ml a aproximadamente 20 ml, de aproximadamente 4 ml a aproximadamente 10 ml, por ejemplo. En algunos ejemplos, la cantidad de agua es de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 veces, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 veces, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 veces, o de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 veces, o de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 veces mayor que la cantidad de la composición.

El recipiente puede ser cualquier recipiente adecuado para contener líquidos. En algunos ejemplos, el recipiente es el que se emplea en un dispositivo de mezcla y por lo general está sellado en un extremo. El recipiente puede tener cualquier forma de sección transversal conveniente tal como, por ejemplo, cuadrada, rectangular, ovalada, o circular. El recipiente puede ser, pero no se limita a, una cubeta o una placa de microtitulación, por ejemplo. El recipiente empleado en cada etapa de mezcla puede ser el mismo recipiente o pueden ser recipientes diferentes. Si se emplean recipientes diferentes, los recipientes deberían tener propiedades iguales o similares con respecto a la capacidad para leer la absorbancia de un líquido en el recipiente por parte de un dispositivo para la lectura de absorbancia.

Las capas en el recipiente se someten a mezcla usando el dispositivo de mezcla de ensayo a un nivel de intensidad y una duración predeterminados. La expresión "nivel de intensidad y duración predeterminados" significa un nivel de intensidad y una duración que, en circunstancias habituales o normales, darían como resultado la mezcla completa de la capa de composición y la capa de agua. La expresión "mezcla completa" significa que se forma una mezcla o solución homogénea a partir de las capas como resultado de la mezcla. Después de tal mezcla, se mide una primera absorbancia de la mezcla a una longitud de onda predeterminada y en un punto de observación predeterminado en el recipiente. La longitud de onda predeterminada es una longitud de onda de absorbancia del colorante orgánico y puede ser la longitud de onda de absorbancia de pico (máxima). El "punto de observación predeterminado en el recipiente" es un punto que está suficientemente por encima del fondo del recipiente de modo que está por encima de la capa que comprende una composición de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento pero por debajo de la superficie superior de la capa de agua. En algunos ejemplos, el punto de observación predeterminado en el recipiente es el punto justo por encima de la superficie superior de la capa inferior de líquido, que en numerosos ejemplos es una composición de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento.

De acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento, una capa de agua adyacente a una capa de la composición como se ha descrito anteriormente en un recipiente se somete a mezcla usando un dispositivo de mezcla de control. Como se ha mencionado anteriormente, el recipiente puede ser el mismo recipiente que el contenedor usado en la mezcla que se ha discutido anteriormente empleando el dispositivo de mezcla de ensayo o el recipiente puede ser un recipiente diferente. En algunos ejemplos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento, los contenidos del recipiente que se usa en la mezcla con el dispositivo de mezcla de ensayo se pueden emplear en la segunda etapa de mezcla que usa el dispositivo de mezcla de control. Es decir, el recipiente que contiene las capas que se mezclan usando el dispositivo de mezcla de ensayo se puede emplear para la mezcla con el dispositivo de mezcla de control. Las capas se someten a mezcla usando un dispositivo de mezcla de control a un nivel de intensidad y una duración que se conocen por conseguir la mezcla completa de las capas. Después de tal mezcla, se mide una segunda absorbancia de la mezcla a la longitud de onda predeterminada y en un punto predeterminado de observación en el recipiente. La longitud de onda predeterminada y el punto predeterminado de observación son los que se emplean en la medición de la primera absorbancia. La expresión "dispositivo de mezcla de control" se refiere a un dispositivo de mezcla que se conoce por trabajar suficientemente bien para producir la mezcla completa de las capas.

La temperatura durante la mezcla es la temperatura a la que se lleva a cabo la mezcla en un dispositivo de mezcla particular. La temperatura de mezcla depende de una o más de la naturaleza del dispositivo de mezcla, la naturaleza de la composición, la naturaleza de las reacciones, y la naturaleza del analizador, por ejemplo. En algunos ejemplos, para un dispositivo de mezcla que es parte de un aparato de ensayo, la temperatura es aquella a la que se lleva a cabo un ensayo para un analito. La temperatura para un ensayo depende de una o más de la naturaleza del ensayo, la naturaleza de los reactivos de ensayo, y la naturaleza del analizador, por ejemplo. Para ensayos que implican miembros de unión, el medio se incubaba a una temperatura y durante un tiempo que son suficientes para que se produzcan la unión de diversos componentes de los reactivos y la unión del analito en una mezcla. Normalmente se emplean temperaturas moderadas para llevar a cabo el método y habitualmente una temperatura constante. En algunos ejemplos, las temperaturas de incubación varían de aproximadamente 5 °C a aproximadamente 99 °C, o de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 70 °C, o de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 45 °C, por ejemplo.

La duración de la mezcla es la duración durante la que se lleva a cabo la mezcla en un dispositivo de mezcla particular. La duración de la mezcla depende de una o más de la naturaleza del dispositivo de mezcla, la naturaleza de la composición, y la naturaleza del recipiente, por ejemplo. En algunos ejemplos, para un dispositivo de mezcla que es parte de un aparato de ensayo, la duración de la mezcla es aquella a la que se lleva a cabo un ensayo para un analito. La duración de la mezcla para un ensayo depende de una o más de la naturaleza del ensayo y la

naturaleza de los reactivos de ensayo, por ejemplo. Para ensayos que implican miembros de unión, el medio se mezcla durante un tiempo suficiente para que se produzca la unión de diversos componentes de los reactivos y la unión del analito en una muestra. El periodo de tiempo para la mezcla, en algunos ejemplos, es de aproximadamente 0,2 segundos a aproximadamente 24 horas, o de aproximadamente 1 segundo a aproximadamente 6 horas, o de aproximadamente 2 segundos a aproximadamente 1 hora, o de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 15 minutos. Se ha de observar que la duración de la mezcla antes de la medición de la primera absorbancia a menudo es mayor que la duración de la mezcla antes de la medición de la segunda absorbancia. En algunos ejemplos, la duración de la mezcla antes de la medición de la segunda absorbancia es mayor que la duración de la mezcla antes de la medición de la primera absorbancia en al menos aproximadamente 0,5 segundos, o al menos aproximadamente 0,75 segundos, o al menos aproximadamente 1 segundo.

Después de la medición de la primera absorbancia y la segunda absorbancia, se determina la proporción de la primera absorbancia con respecto a la segunda absorbancia y una proporción menor que aproximadamente 1 o fuera del intervalo de 0,95 a 1,05, o de 0,96 a 1,04, o de 0,97 a 1,03 indica que la capacidad del dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción a un nivel de intensidad y una duración predeterminados no es adecuada. La expresión "menor que aproximadamente 1" significa  $1 \pm 0,05$ , o  $1 \pm 0,04$ , o  $1 \pm 0,03$ , o  $1 \pm 0,02$ , o  $1 \pm 0,01$ , o 1. Si se determina una mezcla inadecuada, entonces los resultados de reacción tales como, por ejemplo, los resultados de ensayo, podrían no ser fiables hasta que mejore la mezcla mediante la reparación o el reemplazo del dispositivo de mezcla de ensayo o el ajuste del nivel de intensidad y/o la duración de mezcla de la mezcla usando el dispositivo de mezcla de ensayo.

#### Descripción general de ensayos

Como se ha mencionado anteriormente, un área de aplicación de las composiciones y los métodos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento es aparatos para llevar a cabo análisis para la determinación de la presencia y/o la cantidad de uno o más analitos en la muestra que se analiza. Los métodos de ensayo implican habitualmente una muestra que se sospecha que contiene un analito, que se combina en un medio de ensayo con reactivos para llevar a cabo el ensayo. Los reactivos de ensayo pueden incluir un compañero de unión para el analito y uno o más de otros compañeros de unión que dependen de una o más de la naturaleza del ensayo, la naturaleza del analito, y la naturaleza de los otros reactivos de ensayo, por ejemplo. Uno o más de los reactivos pueden ser parte de un sistema de producción de señal donde se puede etiquetar al menos uno de los reactivos. Los reactivos se seleccionan de un modo tal que se obtiene una señal de una etiqueta de acuerdo con la presencia o la cantidad de analito en la muestra. El ensayo se puede llevar a cabo sin separación (homogéneo) o con separación (heterogéneo) de cualquiera de los compuestos o productos de ensayo. Los ensayos pueden ser competitivos o no competitivos.

Los inmunoensayos pueden implicar reactivos etiquetados o no etiquetados. Los inmunoensayos que implican reactivos no etiquetados comprenden habitualmente la formación de complejos relativamente grandes que implican uno o más anticuerpos preparados a partir de conjugados inmunogénicos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento. Tales ensayos incluyen, por ejemplo, métodos de inmunoprecipitina y aglutinación y las técnicas de dispersión de luz correspondientes tales como, por ejemplo, nefelometría y turbidimetría, para la detección de complejos de anticuerpos. Los inmunoensayos marcados incluyen, pero no se limitan a, inmunoensayos de quimioluminiscencia, inmunoensayos enzimáticos, inmunoensayos de polarización de fluorescencia, radioinmunoensayos, ensayos de inhibición, ensayos de luminiscencia inducida, y ensayos de canalización de oxígeno fluorescente, por ejemplo. Todos los ensayos indicados anteriormente implican por lo general al menos una etapa en la que se mezclan uno o más reactivos.

Los inmunoensayos homogéneos se muestran a modo de ejemplo mediante el ensayo EMIT® (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Deerfield, IL) que se desvela en Rubenstein, *et al.*, documento de Patente de Estados Unidos n.º 3.817.837, de la columna 3, línea 6 a la columna 6, línea 64; métodos de inmunofluorescencia tales como los que se desvelan en Ullman, *et al.*, documento de Patente de Estados Unidos n.º 3.996.345, de la columna 17, línea 59, a la columna 23, línea 25; inmunoensayos de canalización enzimática ("ECIA") tales como los que se desvelan en Maggio, *et al.*, documento de Patente de Estados Unidos n.º 4.233.402, de la columna 6, línea 25 a la columna 9, línea 63; el inmunoensayo de polarización de fluorescencia ("FPIA") que se desvela, por ejemplo, entre otros, en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 5.354.693; e inmunoensayos enzimáticos tales como el ensayo de inmunoabsorción asociado a enzimas ("ELISA"). Algunos ejemplos de ensayos heterogéneos son el radioinmunoensayo, que se describe en Yalow, *et al.*, J. Clin. Invest. 39:1157 (1960). Otros inmunoensayos enzimáticos son el inmunoensayo mediado por modulación enzimática ("EM-MIA") que se discute en Ngo y Lenhoff, FEBS Lett. (1980) 116:285-288; el inmunoensayo de fluorescencia etiquetado de sustrato ("SLFIA") que se desvela en Oellerich, J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1984) 22:895-904; los inmunoensayos de donador enzimático combinado ("CEDIA") que se desvelan en Khanna, *et al.*, Clin. Chem. Acta (1989) 185:231-240; inmunoensayos etiquetados de partículas homogéneas tales como los inmunoensayos de inhibición turbidimétrica potenciada de partículas ("PETINIA"), inmunoensayo turbidimétrico potenciado de partículas ("PETIA"), por ejemplo.

Otros ensayos incluyen el inmunoensayo de partículas sol ("SPIA"), el inmunoensayo de colorante disperso ("DIA"); el metaloinmunoensayo ("MIA"); los inmunoensayos de membrana enzimática ("EMIA"); luminoensayos ("LIA"); por ejemplo. Otros tipos de ensayos incluyen ensayos de inmunodetector que implican la monitorización de los cambios en las propiedades ópticas, acústicas y eléctricas del presente conjugado tras la unión del analito EDDP. Tales ensayos incluyen, por ejemplo, ensayos de inmunodetector óptico, ensayos de inmunodetector acústico, ensayos de inmunodetector semiconductor, ensayos de inmunodetector transductor electroquímico, ensayos de inmunodetector potenciométrico, ensayos de electrodo amperimétrico.

La muestra que se analiza es la que se sospecha que contiene uno o más analitos. La muestra es preferentemente de un sujeto mamífero, por ejemplo, humano u otra especie e incluye fluidos biológicos tales como sangre total, suero, plasma, esputo, fluido linfático, semen, mucus vaginal, heces, orina, fluido espinal, saliva, deposiciones, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, mucus, por ejemplo; tejido biológico tal como pelo, piel, secciones o tejido extirpado de órganos u otras partes del cuerpo; por ejemplo. En numerosos casos, la muestra es sangre total, plasma o suero.

La muestra se puede preparar en cualquier medio conveniente. De forma conveniente, la muestra se puede preparar en un medio de ensayo, que se discute con mayor profundidad en lo sucesivo en el presente documento. En algunos casos, se puede aplicar un pretratamiento a la muestra tal como, por ejemplo, para lisar las células sanguíneas. En algunos ejemplos, tal pretratamiento se lleva a cabo en un medio que no interfiere básicamente con el ensayo.

#### Kits que comprenden reactivos para llevar a cabo los métodos

Los componentes en las composiciones de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento pueden estar presentes en un kit útil para llevar a cabo de forma conveniente los métodos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones un kit comprende en combinación envasada un colorante orgánico y un material de mejora de la densidad. El kit puede incluir además otros reactivos para llevar a cabo el método tales como, por ejemplo, uno o más tampones y uno o más conservantes. Los componentes pueden estar cada uno en recipientes separados o se pueden combinar diversos componentes en uno o más recipientes dependiendo de la reactividad cruzada y la estabilidad de los componentes.

Las cantidades relativas de los diversos componentes en los kits pueden ser las necesarias para conseguir las cantidades deseadas de los componentes en una composición de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento. En las circunstancias apropiadas, se pueden proporcionar uno o más de los componentes en el kit en un estado seco. El kit puede incluir además una descripción escrita de un método que utiliza los reactivos que incluyen un conjugado de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento.

La expresión "al menos" como se usa en el presente documento significa que el número de elementos especificados puede ser mayor o igual que el número indicado. Excepto cuando se defina de otro modo, el término "aproximadamente" como se usa en el presente documento significa que el número indicado puede diferir en más o menos un 10 %; por ejemplo, "aproximadamente 5" significa un intervalo de 4,5 a 5,5.

La denominación "primero" y "segundo" es completamente arbitraria y no pretende sugerir ningún orden o clasificación entre los elementos identificados ni ningún orden de adición de los elementos identificados en los presentes métodos.

La siguiente discusión se refiere a ejemplos específicos de acuerdo con los principios que se describen en el presente documento a modo de ilustración y no de limitación.

#### **Ejemplos**

A menos que se indique de otro modo, los materiales de los siguientes experimentos se adquirieron en Sigma-Aldrich Chemical Corporation, St. Louis MO. Las partes y los porcentajes que se desvelan en el presente documento son en peso con respecto a volumen a menos que se indique de otro modo.

#### Definiciones:

45 mg = miligramo  
 g = gramo(s)  
 ml = mililitro(s)  
 µl = microlitro(s)  
 °C = grados centígrados  
 50 min = minuto(s)  
 s = segundo (s)  
 p/v = peso con respecto a volumen

Preparación y uso de una composición con Erioglaucina y sacarosa

5 Se preparó una composición por combinación de los componentes que se exponen a continuación para conseguir las concentraciones especificadas. La composición estuvo compuesta por 14 mg/ml de Erioglaucina (n.º CAS 384404509), sacarosa 1,25 M, acetato de sodio 20 mM (pH = 5,4), EDTA 1 mM, PROCLIN® 950 al 1 % y 0,1 mg/ml de sulfato de neomicina. La composición tenía una densidad de 1,17 g/ml y una viscosidad de 4,2 centipoise.

10 La composición se empleó para evaluar la idoneidad de mezcla de un dispositivo de mezcla de ensayo en un analizador DIMENSION® VISTA® Intelligent Lab (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown NY). Se dispensaron 145 µl de agua en una cubeta (0,15 ml). A continuación se dispensó la composición indicada anteriormente (5 µl) en la cubeta de un modo tal que la composición formara una capa por debajo de una capa del agua en la cubeta. Las capas en la cubeta se sometieron a mezcla usando el dispositivo de mezcla de ensayo con una intensidad de mezcla estándar a una temperatura de 37 °C durante un periodo de 0,5 s. Después de tal mezcla, se midió una primera absorbancia de la mezcla a 600 nm. La absorbancia se midió en un punto justo por encima de la interfase de las capas superior e inferior.

15 Después de la medición anterior de la absorbancia de la mezcla en la cubeta, las capas en la cubeta se sometieron a mezcla usando un dispositivo de mezcla de control con una intensidad de mezcla estándar a una temperatura de 37 °C durante un periodo de 1 s. Se conocía que el dispositivo de mezcla de control y las condiciones conseguían la mezcla adecuada de las capas en la cubeta. Después de tal mezcla, se midió una segunda absorbancia de la mezcla a 600 nm. Después de la medición de la primera absorbancia y la segunda absorbancia, se determinó que la proporción de la primera absorbancia con respecto a la segunda absorbancia era de 0,75. Esto indicó que la mezcla del dispositivo de mezcla de ensayo fue inadecuada e inapropiada para el procesamiento del ensayo y, de ese modo, el dispositivo de mezcla de ensayo necesita reparación o reemplazo o el nivel de intensidad y/o la duración de mezcla necesitan aumentarse para determinar si se puede conseguir la mezcla adecuada con el dispositivo de mezcla de ensayo.

Preparación y uso de una composición con Erioglaucina y glicerol

25 Se preparó una composición por combinación de los componentes que se exponen a continuación para conseguir las concentraciones especificadas. La composición estuvo compuesta por 0,14 mg/ml de Erioglaucina (n.º CAS 384404509), glicerol al 50 % (w/v), acetato de sodio 20 mM (pH = 5,4), EDTA 1 mM, PROCLIN® 950 al 1 % y 0,1 mg/ml de sulfato de neomicina. La composición tenía una densidad de 1,1 g/ml y una viscosidad de 3,9 centipoise.

30 La composición se empleó para evaluar la idoneidad de mezcla de un dispositivo de mezcla de ensayo en un analizador DIMENSION® VISTA® Intelligent Lab (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown NY). Se dispensaron 145 µl de agua en una cubeta (0,15 ml). A continuación se dispensó la composición indicada anteriormente (5 µl) en la cubeta de un modo tal que la composición formara una capa por debajo de una capa del agua en la cubeta. Las capas en la cubeta se sometieron a mezcla usando el dispositivo de mezcla de ensayo con una intensidad de mezcla estándar a una temperatura de 37 °C durante un periodo de 0,5 s. Después de tal mezcla, se midió una primera absorbancia de la mezcla a 600 nm. La absorbancia se midió en un punto justo por encima de la interfase de las capas superior e inferior.

35 Después de la medición anterior de la absorbancia de la mezcla en la cubeta, las capas en la cubeta se sometieron a mezcla usando un dispositivo de mezcla de control con una intensidad de mezcla estándar a una temperatura de 37 °C durante un periodo de 1 s. Se conocía que el dispositivo de mezcla de control y las condiciones conseguían la mezcla adecuada de las capas en la cubeta. Después de tal mezcla, se midió una segunda absorbancia de la mezcla a 600 nm. Después de la medición de la primera absorbancia y la segunda absorbancia, se determinó que la proporción de la primera absorbancia con respecto a la segunda absorbancia era de 0,75. Esto indicó que la mezcla del dispositivo de mezcla de ensayo fue inadecuada e inapropiada para el procesamiento del ensayo y, de ese modo, el dispositivo de mezcla de ensayo necesita reparación o reemplazo o el nivel de intensidad y/o la duración de mezcla necesitan aumentarse para determinar si se puede conseguir la mezcla adecuada con el dispositivo de mezcla de ensayo.

Preparación y uso de una composición con Erioglaucina y fructosa

50 Se prepara una composición y comprende 0,14 mg/ml de Erioglaucina (n.º CAS 384404509) y fructosa 1,25 M. La composición se emplea como se ha descrito anteriormente para evaluar la idoneidad de mezcla de un dispositivo de mezcla de ensayo en un analizador DIMENSION® VISTA® Intelligent Lab (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.). La mezcla de las capas se determina que es inadecuada e inapropiada para el procesamiento del ensayo y, de ese modo, el dispositivo de mezcla de ensayo necesita reparación o reemplazo o el nivel de intensidad y/o la duración de mezcla necesitan aumentarse para determinar si se puede conseguir la mezcla adecuada con el dispositivo de mezcla de ensayo.

Preparación y uso de una composición con verde malaquita y sacarosa

- 5 Se prepara una composición y comprende 0,15 mg/ml de verde malaquita y sacarosa 1,25 M. La composición se emplea como se ha descrito anteriormente para evaluar la idoneidad de mezcla de un dispositivo de mezcla de ensayo en un analizador DIMENSION@ VISTA@ Intelligent Lab (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.). La mezcla de las capas se determina que es inadecuada e inapropiada para el procesamiento del ensayo y, de ese modo, el dispositivo de mezcla de ensayo necesita reparación o reemplazo o el nivel de intensidad y/o la duración de mezcla necesitan aumentarse para determinar si se puede conseguir la mezcla adecuada con el dispositivo de mezcla de ensayo.

Preparación y uso de una composición con Ponceau S y trehalosa

- 10 Se prepara una composición y comprende 0,14 mg/ml de Ponceau S y trehalosa 1,25 M. La composición se emplea como se ha descrito anteriormente para evaluar la idoneidad de mezcla de un dispositivo de mezcla de ensayo en un analizador DIMENSION@ VISTA@ Intelligent Lab (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.). La mezcla de las capas se determina que es inadecuada e inapropiada para el procesamiento del ensayo y, de ese modo, el dispositivo de mezcla de ensayo necesita reparación o reemplazo o el nivel de intensidad y/o la duración de mezcla necesitan aumentarse para determinar si se puede conseguir la mezcla adecuada con el dispositivo de mezcla de ensayo.
- 15

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición que comprende una solución acuosa de un colorante orgánico de peso molecular en el intervalo de 300 a 1000 dalton y un material de mejora de la densidad en la que la cantidad de material de mejora de la densidad en la solución acuosa es suficiente para conseguir una densidad de 1,0 a 1,3 g/ml y en la que la composición tiene una viscosidad de 3,5 a 5,0 centipoise, en la que el colorante orgánico es un colorante azoico aromático, o un colorante de triarilmetano, o se selecciona entre el grupo que consiste en Erioglaucina, Ponceau S, Rojo Allura, Rojo Ácido, Verde Malaquita, y Amaranto.
2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el material de mejora de la densidad es un polihidroxicompuesto, o un poliol, un monosacárido o un disacárido, o se selecciona entre el grupo que consiste en sacarosa, fructosa, trehalosa y una mezcla de dos o más de las mismas.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende además uno o ambos de un tampón y un conservante.
4. Un método para la evaluación de la idoneidad de un dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción, comprendiendo el método:  
 someter a mezcla una capa de agua adyacente a una capa de la composición de la reivindicación 1 en un recipiente usando el dispositivo de mezcla de ensayo a un nivel de intensidad y una duración predeterminados y medir una primera absorbancia de la mezcla a una longitud de onda predeterminada;  
 someter a mezcla una capa de agua adyacente a una capa de la composición de la reivindicación 1 en un recipiente usando un dispositivo de mezcla de control a un nivel de intensidad y una duración que maximicen la mezcla de la mezcla y medir una segunda absorbancia de la mezcla a una longitud de onda predeterminada; y determinar la proporción de la primera absorbancia con respecto a la segunda absorbancia en el que una proporción fuera del intervalo de 0,95 a 1,05 indica que la capacidad del dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción a un nivel de intensidad y una duración predeterminados no es adecuada.
5. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el colorante orgánico es un colorante azoico aromático y en la que el material de mejora de la densidad es un monosacárido o disacárido en la que la cantidad de monosacárido o disacárido en la solución acuosa es suficiente para conseguir una densidad de 1,1 a 1,2 g/ml y en la que la composición tiene una viscosidad de 3,5 a 5,0 centipoise.
6. La composición de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el colorante orgánico es un colorante azoico de triarilmetano o un colorante azoico de anillos de arilo condensados.
7. La composición de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el monosacárido o disacárido se selecciona entre el grupo que consiste en sacarosa, fructosa, trehalosa y una mezcla de dos o más de las mismas.
8. La composición de acuerdo con la reivindicación 5 que comprende además uno o ambos de un tampón y un conservante.
9. Un método para la evaluación de la idoneidad de un dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción, comprendiendo el método:  
 someter a mezcla una capa de agua encima de una capa de la composición de la reivindicación 6 en un recipiente usando el dispositivo de mezcla de ensayo a un nivel de intensidad y una duración predeterminados y medir una primera absorbancia de la mezcla a una longitud de onda predeterminada,  
 someter a mezcla una capa de la composición de la reivindicación 5 adyacente a una capa de agua en un recipiente usando un dispositivo de mezcla de control a un nivel de intensidad y una duración que maximicen la mezcla de la mezcla y medir una segunda absorbancia de la mezcla a una longitud de onda predeterminada; y determinar la proporción de la primera absorbancia con respecto a la segunda absorbancia, en la que una proporción fuera del intervalo de 0,95 a 1,05 indica que la capacidad del dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción a un nivel de intensidad y una duración predeterminados no es adecuada.
10. Un método para la evaluación de la idoneidad de un dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción, comprendiendo el método:  
 someter a mezcla una capa de agua adyacente a una capa de una composición en un recipiente usando el dispositivo de mezcla de ensayo a un nivel de intensidad y una duración predeterminados y medir una primera

- 5 absorbanza de la mezcla a una longitud de onda predeterminada, en el que la composición comprende una solución acuosa de un colorante azoico aromático de peso molecular en el intervalo de 300 a 1000 y un material de mejora de la densidad en el que la cantidad de material de mejora de la densidad en la solución acuosa es suficiente para conseguir una densidad de 1,0 a 1,1 g/ml y en el que la composición tiene una viscosidad de 3,5 a 5,0 centipoise
- 10 someter a mezcla una capa de agua adyacente a una capa de la composición en un recipiente usando un dispositivo de mezcla de control a un nivel de intensidad y una duración que maximicen la mezcla de la mezcla y medir una segunda absorbanza de la mezcla a una longitud de onda predeterminada, en el que la composición comprende una solución acuosa de un colorante azoico aromático de peso molecular en el intervalo de 300 a 1000 y un material de mejora de la densidad en el que la cantidad de material de mejora de la densidad en la solución acuosa es suficiente para conseguir una densidad de 1,0 a 1,1 g/ml y en el que la composición tiene una viscosidad de 3,5 a 5,0 centipoise; y
- 15 determinar la proporción de la primera absorbanza con respecto a la segunda absorbanza, en el que una proporción fuera del intervalo de  $1 \pm 0,05$  indica que la capacidad del dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla de reacción a un nivel de intensidad y una duración predeterminados no es adecuada.
11. El método de acuerdo con la reivindicación 10 en el que una proporción menor de 0,95 indica que la capacidad del dispositivo de mezcla de ensayo para mezclar una mezcla reacción a un nivel de intensidad y una duración predeterminados no es adecuada.
- 20 12. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el dispositivo de mezcla de ensayo es parte de un analizador automatizado.
13. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el material de mejora de la densidad es un monosacárido o un disacárido.
- 25 14. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el colorante orgánico se selecciona entre el grupo que consiste en Ponceau S, Rojo Allura, Rojo Ácido y Amaranto y el material de mejora de la densidad se selecciona entre el grupo que consiste en sacarosa, fructosa, trehalosa y las mezclas de las mismas.