

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 984 374**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

F16K 99/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.09.2014 PCT/EP2014/070937**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2015 WO15044454**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.09.2014 E 14777351 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2024 EP 3052234**

54 Título: **Un dispositivo microfluídico y métodos**

30 Prioridad:

30.09.2013 SE 1300623

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

29.10.2024

73 Titular/es:

CAPTAINER AB (100.0%)

**Solna torg 19
171 45 Solna, SE**

72 Inventor/es:

**STEMME, GÖRAN;
LENK, GABRIEL;
BECK, OLOF y
ROXHED, NICLAS**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 984 374 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

Un dispositivo microfluídico y métodos

Campo técnico

5 La presente invención se refiere en general a un dispositivo microfluídico para líquidos, que comprende material soluble para controlar el flujo de líquido en el dispositivo y a métodos para controlar un flujo de líquido en un dispositivo microfluídico. La utilización del dispositivo y métodos de fabricación del dispositivo se describen pero no se reivindican.

Antecedentes de la técnica

10 Los dispositivos microfluídicos se usan en una amplia gama de aplicaciones. Típicamente, un dispositivo microfluídico se define para manipular pequeños volúmenes de fluido (μl , nI, pI, etc.), tiene un tamaño pequeño con al menos una dimensión en el intervalo micrométrico y/o efectos de utilización del microdominio. En tales dispositivos, los fluidos pueden moverse, mezclarse, separarse o procesarse de otro modo. Numerosas aplicaciones emplean técnicas pasivas de control de fluido, como fuerzas capilares.

15 Un área importante de utilización de la microfluídica es en los dispositivos médicos. Los dispositivos microfluídicos pueden utilizarse en aplicaciones analíticas o terapéuticas, por ejemplo, para administrar medicamentos o para manipular muestras de fluidos corporales. En muchas aplicaciones puede ser importante poder definir volúmenes de líquidos que han de manipularse y procesarse por el dispositivo microfluídico. Sin embargo, hoy en día todavía existe aún un problema para encontrar una solución simple y eficiente para definir un volumen de líquido en dicho dispositivo.

20 El documento US20070026439A1 describe un dispositivo de procesamiento de fluidos y métodos que pueden procesar una o muchas muestras de fluidos diferentes, detección para cada una de las cuales se puede multiplexar para detectar la presencia o ausencia de cada uno de un panel de secuencias diana. El dispositivo puede comprender un sustrato y una o más trayectorias de procesamiento de fluidos definidas al menos parcialmente por el sustrato. Cada trayectoria de procesamiento de fluidos puede comprender una región de pre-amplificación y dos o más regiones de amplificación dispuestas aguas abajo de y en comunicación fluida con la región de pre-amplificación. Se puede disponer una válvula anti-retorno a lo largo de cada trayectoria de procesamiento de fluidos y las regiones aguas abajo pueden contener gas de amoníaco precargado para extraer una muestra amplificada aguas abajo.

25 El documento US8312890B describe un dispositivo, sistema y método de procesamiento de fluidos para procesar un fluido. El dispositivo incluye un sustrato, una pluralidad de regiones de retención de fluido formadas en o sobre el sustrato, y una barrera que separa al menos parcialmente dos o más de las regiones de retención de fluido, en donde la barrera puede incluir un material soluble en disolvente, libre de LCST.

30 El documento US6632399 describe métodos y aparatos para realizar análisis y procedimientos microanalíticos y microsintéticos. La invención proporciona una plataforma de microsistema para su uso con un dispositivo de micromanipulación para manipular la plataforma por rotación, utilizando así la fuerza centrípeta resultante de la rotación de la plataforma para motivar el movimiento de fluido a través de microcanales embebidos en la microplataforma. Las plataformas del microsistema de la invención también se proporcionan con componentes microfluídicos, elementos de calentamiento resistivo, elementos sensores de temperatura, estructuras de mezcla, válvulas capilares y de sacrificio, y métodos para usar estas plataformas de microsistemas para realizar ensayos biológicos, enzimáticos, inmunológicos y químicos.

35 El documento WO 2012178187 describe realizaciones de dispositivos para procesar, analizar, detectar, medir y separar fluidos. Los dispositivos pueden usarse para realizar estos procesos a escala microfluídica, y con control sobre el transporte de fluido y reactivo. En una realización, por ejemplo, un dispositivo para realizar procesos químicos puede incluir una mecha porosa que comprende una trayectoria definida por un extremo de entrada, un extremo de salida y una longitud entre el extremo de entrada y el extremo de salida. La trayectoria está configurada para absorber fluido desde el extremo de entrada al extremo de salida por acción capilar. El dispositivo puede incluir además un reactivo colocado en la trayectoria. El reactivo puede colocarse en un patrón configurado para controlar una distribución espacial o temporal del reactivo a lo largo de la trayectoria tras humedecer la trayectoria.

40 El documento WO 2012164086 describe dispositivos microfluídicos y, en particular, se describen dispositivos microfluídicos que incorporan una válvula para controlar selectivamente el flujo de un fluido dentro del dispositivo microfluídico. Se describen ejemplos específicos de un dispositivo microfluídico, que comprende una válvula de sacrificio, deseablemente una que se pueda disolver al contacto con un fluido o que esté configurada para desintegrarse o disolverse al experimentar una presión predeterminada.

50

Compendio de la invención

Un objeto de la presente invención es, por tanto, proporcionar una solución simple para definir un volumen de líquido en un dispositivo microfluídico.

- Por lo tanto, la invención se refiere a un dispositivo microfluídico que comprende un orificio de entrada para líquido, un canal capilar adecuado para medir un volumen de líquido aspirado en el mismo por acción capilar desde el orificio de entrada, mientras está en conexión fluida con el orificio de entrada para recibir líquido desde el orificio de entrada, teniendo el canal capilar una parte de entrada conectada al orificio de entrada, una parte de salida y un volumen definido, al menos una válvula soluble que comprende una membrana soluble. La membrana soluble comprende material soluble por el líquido y tiene un primer lado orientado hacia, es decir, enfrentado, al canal capilar de medición. Un medio capilar está conectado al segundo lado de la membrana soluble de manera que cuando la membrana es disuelta por el líquido, el líquido es transportado a través de la válvula al segundo lado de la membrana por acción capilar.
- La al menos una válvula soluble está en conexión capilar con la porción de salida del canal capilar, y dispuesta para transportar un volumen medido de líquido desde el canal capilar cuando la membrana es disuelta. Por lo tanto, el canal capilar puede llenarse para definir un volumen de líquido en el dispositivo, seguido por la liberación del volumen de líquido a través de la membrana soluble.
- El dispositivo microfluídico comprende un estratificado de capas de material que definen una trayectoria de flujo para el líquido y que comprende al menos una capa de material soluble que forma la al menos una membrana soluble. Por lo tanto, se pueden formar una o más membranas de una manera simple en el dispositivo microfluídico.
- El dispositivo microfluídico comprende un orificio de ventilación de aire antes de cada membrana soluble para permitir el llenado capilar de líquido hasta la membrana.
- La membrana soluble con los medios capilares forma así una válvula soluble. El canal capilar y la válvula soluble cooperan para definir un volumen de líquido transportado a través del canal capilar. Por lo tanto, el volumen de líquido transportado a través del canal capilar es una parte del líquido suministrado al orificio de entrada.
- El orificio de entrada del dispositivo puede ser, por ejemplo, una abertura para recibir líquido. La membrana soluble tiene una extensión lateral que es mayor que una dimensión de grosor de la membrana para facilitar la disolución y fabricación del dispositivo. Por tanto, presenta un primer y un segundo lado. El material de la membrana es soluble por líquido en un intervalo de tiempo que es razonable para que el dispositivo funcione, es decir, menos de 1 hora, menos de 10 minutos o menos de 1 minuto, dependiendo de la aplicación. Al disolver la membrana, se entiende que la membrana se disuelve lo suficiente para descubrir los medios capilares conectados al segundo lado de la membrana. Por capilar se entiende una estructura que está configurada para impulsar el flujo de líquido por acción capilar.
- El orificio de entrada puede comprender una cámara de entrada para recibir líquido y en donde la al menos una válvula soluble conectada a la cámara de entrada, para transportar líquido desde la cámara de entrada cuando la membrana es disuelta.
- Por lo tanto, la membrana soluble puede usarse para eliminar líquido de la cámara de entrada, que no ha entrado en el canal capilar, proporcionando así un efecto de "pinzamiento" del líquido en el canal capilar para definir un volumen ya introducido en el canal capilar.
- El canal capilar puede tener una parte de entrada, conectada al orificio de entrada, y una parte de salida, en donde el orificio de entrada puede comprender una cámara de entrada para recibir líquido y en donde una primera válvula soluble está conectada a la cámara de entrada, para transportar líquido desde la cámara de entrada cuando la membrana está disuelta, y en donde una segunda válvula soluble está en conexión capilar con la parte de salida del canal capilar, y dispuesta para transportar líquido desde el canal capilar cuando la membrana está disuelta. Las membranas solubles de las válvulas y el canal capilar están configuradas de tal manera que la membrana de la primera válvula se disuelve antes que la membrana de la segunda válvula mediante un líquido suministrado al orificio de entrada.
- Los medios capilares pueden comprender al menos un canal capilar o una estructura que permite el llenado capilar, tal como un material absorbente poroso, preferiblemente una matriz de papel absorbente. Por lo tanto, el líquido puede ser transportado de manera efectiva sobre la membrana soluble una vez disuelta. El líquido puede recogerse, por ejemplo, en el material poroso para análisis adicional.
- El dispositivo puede comprender una pluralidad de canales capilares dispuestos en paralelo conectados a una pluralidad respectiva de válvulas solubles, en donde los medios capilares de las válvulas solubles están conectados para recoger líquido procedente de las válvulas.
- Por lo tanto, los volúmenes de líquido definidos antes de las válvulas pueden liberarse secuencialmente o en paralelo, por ejemplo, para realizar una secuencia predeterminada de reacciones en el dispositivo.

El dispositivo microfluídico puede comprender una pluralidad de válvulas solubles, distribuidas a lo largo de una trayectoria de flujo capilar de líquido en el dispositivo microfluídico, que comprende el canal capilar. Por lo tanto, se puede realizar el procesamiento secuencial del líquido en el dispositivo.

5 El canal capilar puede comprender una estructura de canal capilar ramificado que comprende una pluralidad de brazos laterales conectados de manera capilar a la pluralidad de válvulas solubles. Por lo tanto, el volumen de líquido puede dividirse en una pluralidad de sub-volúmenes para su procesamiento adicional en el dispositivo.

10 Los tiempos de disolución de la pluralidad de membranas solubles de las válvulas pueden adaptarse individualmente para proporcionar una temporización predeterminada de eventos en el dispositivo microfluídico. La pluralidad de membranas solubles de las válvulas puede adaptarse individualmente con diferentes grosores de membrana para proporcionar los diferentes tiempos de disolución. Por lo tanto, las operaciones con fluidos pueden realizarse de manera temporizada y secuencial para permitir procedimientos de fluidos avanzados de múltiples etapas en el dispositivo.

15 El primer lado de la al menos una membrana soluble de la válvula puede conectarse a un canal de extremo muerto capilar, configurado de manera que el líquido que disuelve la membrana se transporta al canal de extremo muerto capilar por fuerzas capilares. Por lo tanto, el líquido cargado con material disuelto de la membrana puede ser conducido al canal capilar de extremo muerto para permitir que el líquido que tiene menos cantidad de material disuelto se propague a través de la membrana una vez disuelta. Así, por ejemplo, puede mantenerse la viscosidad del líquido.

20 Si el dispositivo comprende una pluralidad de membranas solubles, más de una membrana soluble puede conectarse a un canal de extremo muerto capilar respectivo. Por lo tanto, en cada membrana soluble, por ejemplo, a lo largo de una trayectoria de flujo de líquido en el dispositivo, el líquido cargado con material disuelto de la membrana puede ser conducido a un canal de extremo muerto capilar respectivo.

El material de la membrana soluble puede ser soluble por fluido corporal, cuando el líquido es un fluido corporal, tal como sangre.

25 El material de la membrana soluble puede comprender alcohol polivinílico (PVA), polisacáridos solubles, gelatina y similares.

El dispositivo microfluídico puede comprender una pluralidad de membranas solubles formadas por una misma capa de material soluble en el dispositivo microfluídico.

30 La trayectoria de flujo capilar en el dispositivo microfluídico puede comprender canales capilares en ambos lados de la capa de membrana soluble, en donde se forma una pluralidad de válvulas solubles en cruces de trayectoria de flujo a través de la capa de membrana soluble. Por lo tanto, se puede formar una pluralidad de membranas solubles y canales capilares de una manera simple en el dispositivo.

El dispositivo microfluídico puede comprender una membrana de separación de plasma para separar plasma del líquido, siendo el líquido sangre completa. La membrana de separación de plasma puede preverse antes o después de una membrana soluble.

35 El dispositivo microfluídico puede formarse como un estratificado que comprende una primera capa de material que forma el canal capilar, una segunda capa de material que comprende material soluble, para formar la al menos una membrana soluble, y una tercera capa de material que comprende los medios capilares. Por lo tanto, el dispositivo puede fabricarse de una manera sencilla.

40 La toma convencional de muestras de manchas de sangre secas sufre de proporcionar un volumen desconocido de muestra de sangre que se almacena en un disco perforado de papel absorbente, y de una composición de muestra no homogénea en la mancha de muestra. Al preparar un volumen bien definido de sangre almacenada en el papel absorbente y al usar la mancha de sangre completa recogida en el papel, estos inconvenientes se reducen y la calidad de las pruebas realizadas sobre la mancha de sangre puede aumentar.

45 La invención se refiere además a un método para controlar un flujo de líquido en un dispositivo microfluídico según la presente invención que comprende:

- proporcionar líquido en el orificio de entrada,
- recibir líquido desde el orificio de entrada para llenar el canal capilar por acción capilar de manera que el líquido alcance la válvula soluble,
- disolver la membrana de la válvula soluble por el líquido, y

- transportar el líquido a través de la válvula soluble al segundo lado de la membrana por medio de acción capilar en los medios capilares.

5 El método puede comprender recibir un volumen de líquido en el canal capilar, procedente de un volumen indefinido de líquido proporcionado en el orificio de entrada, iniciar la disolución de la membrana por el líquido recibido en el canal capilar, eliminar el exceso de líquido en el orificio de entrada antes de que la membrana se disuelva, y luego transportar el líquido al segundo lado de la membrana por medio de la acción capilar en los medios capilares, separando así un volumen definido de líquido de un volumen indefinido de líquido proporcionado en el orificio de entrada. Por lo tanto, el canal capilar puede llenarse para definir un volumen de líquido en el dispositivo, seguido por la liberación del volumen de líquido a través de la membrana soluble. Por lo tanto, un volumen definido de líquido puede separarse de un volumen indefinido de líquido proporcionado al orificio de entrada. Por lo tanto, el líquido recibido en el canal capilar puede ser "apretado" para proporcionar una superficie libre de líquido orientada hacia el orificio de entrada.

15 En un método ejemplar para controlar y temporizar el flujo de fluido en sistemas microfluídicos con membranas solubles de sacrificio, una o varias membranas solubles que, por sus tiempos de disolución una vez en contacto con un líquido, pueden usarse para controlar la temporización de acontecimientos dentro del dispositivo microfluídico.

20 Por lo tanto, se puede lograr una operación secuencial de eventos en el dispositivo microfluídico. El dispositivo y el método según la invención proporcionan además una mejor manipulación de fluidos en sistemas microfluídicos (por ejemplo, separación de volúmenes, medición, válvulas, cascada). Para accionar las válvulas solubles no se necesita más accionamiento adicional que el propio líquido disolvente. El método puede usarse preferiblemente en sistemas accionados por capilaridad, donde el contacto entre la membrana y el fluido desintegrador se logra por fuerzas capilares, y puede usarse para realizar operaciones secuenciales en sistemas accionados por capilaridad. El tiempo de disolución de las membranas puede controlarse, por ejemplo, mediante el grosor y el material de película soluble. Las válvulas solubles pueden usarse además para controlar la temporización en un dispositivo de tal manera que varios fluidos diferentes que se aplican simultáneamente a diferentes canales de medición se liberan en un sistema microfluídico común en un cierto orden, controlado por el retraso de disolución de las diferentes membranas.

Breve descripción de los dibujos

La invención se describirá ahora, a título de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos, en los cuales:

30 La Fig. 1 muestra un dispositivo microfluídico según una primera realización, el dispositivo se muestra en (a) en una sección transversal a lo largo del canal capilar y (b) en una sección transversal a través del canal capilar, definida por el plano A-A en (a).

La Fig. 2 muestra cuatro etapas (a)-(d) de fabricación de un dispositivo microfluídico tal como se muestra en la Fig. 1.

La Fig. 3 muestra siete etapas de funcionamiento (a)-(g) de un dispositivo microfluídico tal como se muestra en la Fig. 1.

La Fig. 4 muestra un ejemplo de medición de volumen por una pluralidad de dispositivos microfluídicos.

35 La Fig. 5 muestra una sección transversal de un dispositivo microfluídico según otra alternativa, con seis etapas de funcionamiento (a)-(f).

La Fig. 6 muestra un dispositivo microfluídico según otra alternativa, con siete etapas de funcionamiento (a)-(g).

La Fig. 7 muestra una sección transversal de un dispositivo microfluídico según otra alternativa más.

La Fig. 8 muestra una sección transversal de un dispositivo microfluídico según otra alternativa más.

40 La Fig. 9 (a) muestra la sección transversal de un dispositivo microfluídico que tiene una pluralidad de membranas y una pluralidad de canales capilares de extremo muerto con el funcionamiento del dispositivo ilustrado en (b)-(c).

Descripción de realizaciones

A continuación, se lleva a cabo una descripción detallada de realizaciones de la invención.

45 La Fig. 1 muestra un dispositivo microfluídico 101 según una primera alternativa, que comprende un canal capilar 103 que tiene un volumen definido y que tiene una parte 104 de entrada y una parte 105 de salida. La parte de entrada está conectada a un orificio 102 de entrada para líquido, tal como un fluido corporal. El orificio de entrada está dispuesto en conexión con una cámara 106 de entrada para recibir un volumen indefinido de líquido, tal como aproximadamente 30 µl.

La cámara de entrada está en conexión fluida con una primera válvula soluble 107 que comprende una membrana soluble 108 y un medio capilar 109 en forma de una capa de papel absorbente, tal como papel Whatman 903 DBS. La membrana tiene un primer lado orientado hacia el líquido en la cámara de entrada y un segundo lado orientado hacia los medios capilares de manera que cuando la membrana es disuelta por el líquido, el líquido es transportado a través de la válvula al segundo lado de la membrana por acción capilar. La membrana puede ser una capa de PVA obtenida en forma de una lámina o película o preparada mediante recubrimiento por centrifugación de una solución líquida de alcohol polivinílico (PVA), que es un polímero termoplástico soluble en agua. Tiene excelentes propiedades de formación de película y adhesión. No es tóxico y se usa en diversas aplicaciones médicas. El material tiene una elevada resistencia a tracción y es flexible. El PVA es un polímero soluble en líquido y una capa de 30 μm de grosor se disuelve mediante una gota de agua en aproximadamente 90 segundos. Por lo tanto, la capa de PVA es preferiblemente inferior a 20 μm , más preferiblemente inferior a 10 μm , o incluso inferior a 5 μm para disolverse en menos de 60 segundos, menos de 30 segundos o menos de 15 segundos. Preferiblemente se usa un grosor de película de PVA de 1-10 μm . La membrana 107 tiene así un grosor mucho menor que una dimensión lateral de la membrana y permite así una disolución eficaz por el líquido sin cargar el líquido con cantidades innecesarias de material disuelto.

La parte 105 de salida del canal capilar 103 está en conexión capilar con una segunda válvula soluble 110 que comprende una membrana soluble 111 y un medio capilar 112 en forma de una capa de papel absorbente, tal como papel Whatman 903 DBS. La parte 105 de salida del canal capilar 103 está conectada además a un orificio 113 de ventilación para ventilar aire del canal durante el llenado capilar con el líquido.

El dispositivo microfluídico 101 mostrado en la Fig. 1 tiene la forma de un dispositivo multicapa que comprende tres capas 114, 115 y 116 que definen las estructuras microfluídicas que forman la cámara 106 de entrada, el canal capilar 103 y el orificio 113 de ventilación. Las membranas solubles 108 y 111 de las respectivas válvulas solubles 107 y 110 están formadas por una capa 117 de PVA soluble, y los medios capilares 109 y 112 por una capa 118 de papel absorbente.

En relación con la Fig. 2, se describe un método de fabricación de un dispositivo microfluídico. Las películas 114, 115 y 116 que definen la cámara 106 de entrada, el canal capilar 103 y el orificio 113 de ventilación están fabricadas cada una a partir de películas de transparencia polimérica "Xerox" y las estructuras de fluidos cortadas por medio de un trazador de corte. Después de esto, las películas respectivas se alinean y estratifican (a) y (b). Se cortó una capa espaciadora 119 para permitir el posicionamiento individual de la primera 108 y segunda 111 capas de membrana, y una primera y segunda porción de papel absorbente que forman el primero 109 y segundo 112 medios capilares de la primera 107 y segunda 110 válvulas solubles respectivas. Una película 120 de soporte está dispuesta para mantener las capas de papel y de membrana en su lugar.

En el ejemplo mostrado aquí, el diseño de chip del dispositivo consistió en seis capas de diferentes transparencias, dos insertos de papel Whatman 903[®] de 1,6*1,6 cm^2 por chip y dos láminas de PVA de aproximadamente 1*1 cm^2 . Estos componentes se estratificaron juntos en 5 etapas diferentes. El proceso de estratificación comenzó estratificando la capa de canal y la capa de salida (o fondo de canal) usando el adhesivo sensible al calor de una cinta adhesiva de doble cara. El otro lado de la cinta se protegió con un revestimiento (papel amarillo) durante esta etapa del procedimiento. A continuación, la capa de entrada (o cubierta de canal) se alineó y se estratificó a las geometrías de canal usando el lado de pegamento frío de la cinta adhesiva de doble cara después de retirar el revestimiento. Este apilamiento de tres capas definió las geometrías de los canales y por lo tanto el volumen de dosificación del chip. Las capas microfluídicas podrían estratificarse después junto con el PVA y una capa espaciadora. En esta etapa de estratificación, el PVA se pega a la superficie lisa de Xerox ya que el PVA es un material termoplástico con una temperatura de transición vítrea T_g de $\sim 75\text{-}80$ $^\circ\text{C}$. La última etapa para terminar la fabricación del chip fue añadir las incrustaciones de papel para almacenar el exceso, así como el volumen medido de líquido. Los pequeños cuadrados de papel que se prepararon con un cortador se colocaron en las aberturas previstas en la capa espaciadora. Para unirlos al chip, se estratificó la cubierta trasera del chip, uniéndola con su superficie adhesiva a la capa espaciadora y las incrustaciones de papel. Las aberturas en la cubierta trasera del chip permitieron el secado de los fluidos almacenados en el papel. La abertura por debajo de la salida se dimensionó de manera que el volumen medido seco estará dentro de los límites de la abertura de manera que la mancha pueda perforarse fácilmente. Todas las etapas de estratificación se realizaron a una temperatura de 105 $^\circ\text{C}$.

En la Fig. 3 se ilustra la operación (a)-(g) de un dispositivo microfluídico como se muestra en la Fig. 1. Se proporciona una gota de líquido, tal como sangre u otro fluido corporal, al orificio de entrada y llena al menos parcialmente la cámara (a) de entrada. Cuando se proporciona el líquido en el orificio de entrada, el líquido entra en el canal capilar 103 y comienza a llenar el canal por acción capilar (b). Simultáneamente, el líquido en la cámara de entrada comienza a disolver la membrana soluble 108 de la primera válvula soluble 107. En (c) el canal capilar se llena y el líquido ha alcanzado la segunda válvula soluble 110 en el lado de salida del canal capilar. Por lo tanto, la primera válvula soluble ya se ha disuelto parcialmente, durante el tiempo necesario para llenar el canal capilar con el líquido, por ejemplo, 1-5 segundos dependiendo de las propiedades del canal capilar. El tiempo para disolver la primera y la segunda válvulas solubles, desde el contacto con el líquido, es el mismo ya que están formadas por membranas solubles que tienen el mismo grosor. Sin embargo, el grosor de las membranas y, por lo tanto, el tiempo necesario para disolver la membrana

y abrir la válvula pueden adaptarse individualmente para cada válvula. Por lo tanto, la válvula soluble 107 se abre antes que la segunda válvula soluble 110 (d), por lo que el líquido en la cámara de entrada es transportado a través de la válvula hacia los medios capilares, en este caso el papel absorbente. Debido a la acción capilar en el canal capilar, el volumen de líquido en el canal se "aprieta", formando así una superficie libre de líquido orientada hacia la cámara de entrada, cuando la cámara de entrada es vaciada del líquido (e). El exceso de líquido en la cámara de entrada es absorbido en los medios capilares. Por lo tanto, un volumen bien definido de líquido se separa del volumen indefinido de líquido proporcionado al orificio de entrada. A continuación, la membrana de la segunda válvula soluble se disuelve (f) y la válvula se abre, por lo que el líquido en el canal capilar es transportado al otro lado de la membrana por los medios capilares en forma del papel absorbente. Finalmente, cuando el líquido es absorbido completamente en el papel (g), una porción del papel que contiene el líquido puede ser cortada para su procesamiento o análisis adicional.

Así, las principales etapas del método de definición de un volumen de líquido por el dispositivo son:

1. Aplicar una gotita; la válvula de entrada comienza a disolverse; el canal comienza a llenarse,
2. El canal está completamente lleno; la válvula de salida comienza a disolverse
3. La entrada es una válvula completamente disuelta; el líquido comienza a succionarse hacia el papel; es apretado en la parte de entrada del canal, y
4. La válvula de salida está completamente disuelta; el volumen de fluido dentro del canal es transferido a la matriz de papel.

En la Fig. 4 se muestra un ejemplo de medición de volumen por una pluralidad de dispositivos microfluídicos. El gráfico muestra el volumen medido de 55 dispositivos junto con el volumen promedio (línea continua oscura) de 0,87 μl rodeado por líneas que definen la desviación estándar (línea continua clara) de $\pm 0,1 \mu\text{l}$.

El dispositivo microfluídico puede usarse, por ejemplo, en Muestreo de Manchas de Sangre Seca (DBS). Con una sensibilidad incrementada en las técnicas de análisis tales como LC-MS/MS (cromatografía líquida de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas), el muestreo de DBS se considera una alternativa sencilla y conveniente al muestreo de sangre venosa, especialmente interesante para la Monitorización Terapéutica de Fármacos (TDM). Sin embargo, el muestreo de DBS convencional almacena un volumen desconocido de sangre procedente de un pinchazo en el dedo en una matriz de papel, haciendo así que el análisis cuantitativo sea inexacto e impreciso. El problema con el análisis cuantitativo de la DBS proviene del volumen desconocido que se almacena en un disco perforado procedente de la mancha. La distribución no homogénea de analitos dentro de la mancha está causada por variaciones en el valor del hematocrito y efectos cromatográficos en el papel. El dispositivo microfluídico tal como se describe en la presente memoria permite una medición precisa del volumen para dispositivos de flujo lateral y, por lo tanto, es adecuado para medir manchas sanguíneas para análisis de DBS. La mancha de sangre completa absorbida en el papel en la región de salida puede ser ahora perforada, reduciendo los problemas con la falta de homogeneidad dentro de las manchas de sangre secas. Dado que el volumen se ha dosificado en el microcanal, la falta de homogeneidad de la mancha ya no es un problema.

En la Fig. 5 se muestra un dispositivo microfluídico 501 según una realización alternativa. La realización es similar a la descrita en relación con la Fig. 1, pero en esta realización el dispositivo está provisto solo de una válvula soluble 507, prevista en conexión con la parte 505 de salida del canal capilar 503. El orificio 502 de entrada es el extremo de la parte 504 de entrada del canal capilar 503. También en este caso, el dispositivo puede usarse, por ejemplo, para definir un volumen de sangre para el muestreo de DBS.

Se proporciona una gotita de líquido de volumen indefinido al orificio 502 de entrada del dispositivo (a). El líquido procedente de la gotita comienza a llenar el canal capilar 503 por acción capilar (b), hasta que el canal está completamente lleno (c). Una vez que el canal está lleno de líquido, el líquido se pone en contacto con la válvula soluble 507. Después de esto, se retira la gota de líquido restante, y el volumen de líquido en el canal capilar se "aprieta", formando una superficie libre de líquido en el orificio de entrada. Cuando la válvula soluble está disuelta, el volumen bien definido de líquido en el canal capilar es transportado a través de la válvula al medio capilar, en forma de una matriz de papel absorbente. De este modo, un volumen bien definido de líquido se separa del volumen indefinido de la gota de líquido proporcionada al orificio de entrada.

En la Fig. 6 se muestra un dispositivo microfluídico 601 según una alternativa adicional, que comprende un canal capilar 603 que tiene un volumen definido y que tiene una parte 604 de entrada y una primera parte 605 de salida. La parte de entrada está conectada a un orificio 602 de entrada para líquido, tal como un fluido corporal. El orificio de entrada está dispuesto en conexión con una cámara 606 de entrada para recibir un volumen indefinido de líquido y conectado a una válvula soluble 607 de entrada. La primera parte de salida está conectada de manera capilar a una primera válvula soluble 610 de salida.

El canal capilar comprende además una estructura de canal capilar ramificado que comprende una pluralidad de brazos laterales, definiendo cada uno una parte 605' de salida adicional del canal capilar. Cada parte 605' de salida adicional del canal capilar está conectada a otra válvula soluble 610' de salida. El dispositivo comprende, por tanto,

una pluralidad de válvulas solubles 607, 610 y la pluralidad de válvulas 610'. El canal capilar está conectado, por lo tanto, a una pluralidad de válvulas solubles de salida, distribuidas a lo largo de una trayectoria de flujo capilar de líquido en el dispositivo microfluídico.

5 Durante el funcionamiento del dispositivo, se suministra líquido al orificio 602 de entrada, llenando al menos parcialmente la cámara 606 de entrada. La válvula soluble 607 en la entrada comienza entonces a disolverse. El líquido es aspirado a la parte 604 de entrada del canal capilar, y a los brazos laterales del canal capilar (a). La estructura de canal capilar se llena después con líquido (b) y cada una de las válvulas solubles 610, 610' en las respectivas partes 605, 605' de salida comienza a disolverse. Como una etapa siguiente, la válvula soluble en la entrada se abre (c), por lo que cualquier exceso de líquido en la cámara de entrada es transportado a través de la
10 válvula y a los medios capilares. Se forma una superficie libre de líquido en la parte de entrada del canal capilar. La válvula soluble 605 en la primera parte de salida está configurada preferiblemente para ser disuelta antes que las válvulas solubles 605' en los brazos laterales respectivos. Por lo tanto, cuando la válvula soluble 610 en la primera parte de salida se abre (d), el volumen de líquido en el canal capilar principal se extrae hacia la primera válvula de salida y hacia los medios capilares previstos en ella. Durante esta etapa, se forman superficies libres de líquido en los
15 brazos laterales de la estructura capilar, que miran al canal capilar principal (e). Las válvulas 610' de salida en la parte 605' de salida respectiva de los brazos laterales se abren después, ya sea simultáneamente como se muestra en (f), o secuencialmente, por lo que el volumen definido de líquido disponible en el brazo lateral respectivo es transportado al medio capilar en conexión con la válvula 610' de salida respectiva (g). De este modo, a partir del volumen indefinido de líquido suministrado al orificio de entrada, se separan varios volúmenes definidos de líquido para su procesamiento o análisis adicional.
20

En la Fig. 7 se describe una sección transversal de un dispositivo microfluídico según otra alternativa más. El dispositivo comprende un microcanal 703 conectado a un primer orificio 702 de entrada provisto de una válvula soluble 707 de entrada, y una válvula soluble 710 de salida conectada a una parte de salida del canal capilar. El dispositivo difiere de lo que se describe en relación con la Fig. 1 a continuación. En el canal capilar 703, hay prevista una película
25 724 de material soluble, que incorpora una sustancia que se ha de liberar en el líquido. La sustancia puede ser un reactivo. Además, el medio capilar 712, previsto en el segundo lado de la membrana soluble 711 de la válvula soluble de salida, está formado por un canal capilar adicional 725 que conduce a un espacio 721 de reacción. El espacio de reacción puede estar provisto de un orificio 722 de entrada para otro líquido, tal como un reactivo adicional o un líquido de muestra. El espacio de reacción puede llenarse con un material absorbente 723, tal como una matriz de papel absorbente. Tal película soluble que incorpora una sustancia que se ha de liberar en el líquido, y/o los medios capilares que comprenden un canal capilar conectado a un espacio de reacción, se pueden prever junto con uno cualquiera de los otros dispositivos microfluídicos descritos en la presente memoria.
30

Durante el funcionamiento del dispositivo, se proporciona una gota de líquido al orificio 702 de entrada y llena al menos parcialmente la cámara de entrada. Cuando el líquido se proporciona en el orificio de entrada, el líquido entra en el canal capilar 703 y comienza a llenar el canal por acción capilar. Simultáneamente, el líquido en la cámara de entrada comienza a disolver la membrana soluble de la primera válvula soluble 707. La película soluble 724 en el microcanal también comienza a disolverse al llenar el canal con líquido. Cuando el canal capilar está lleno y el líquido ha alcanzado la segunda válvula soluble 710 en el lado de salida del canal capilar, ésta comienza a disolverse. La válvula soluble 707 se abre antes que la segunda válvula soluble 710, por lo que el líquido en la cámara de entrada es transportado
35 a través de la válvula hacia los medios capilares, en este caso el papel absorbente. Debido a la acción capilar en el canal capilar, el volumen de líquido en el canal se "aprieta", formando así una superficie libre de líquido orientada hacia la cámara de entrada, cuando la cámara de entrada está vacía de líquido. El exceso de líquido en la cámara de entrada es absorbido en los medios capilares. Por lo tanto, un volumen bien definido de líquido se separa del volumen indefinido de líquido proporcionado al orificio de entrada. El líquido en el canal capilar ha disuelto entonces la película 724 y se carga así con la sustancia incorporada en la película. A continuación, la membrana de la segunda válvula soluble se disuelve y la válvula se abre, por lo que el líquido en el canal capilar, incluyendo la sustancia, es transportado al otro lado de la membrana por los medios capilares en forma del canal capilar 725 y al espacio de reacción 721 donde se absorbe en el papel 723. Una muestra adicional de líquido puede añadirse entonces al espacio de reacción a través de la entrada 722 y hacerla reaccionar con el primer líquido, o la sustancia transportada por el primer líquido.
40
45

50 En la Fig. 8 se muestra una realización de dos válvulas solubles 810 y 826 dispuestas secuencialmente a lo largo de una trayectoria de flujo de líquido en el dispositivo. La trayectoria de flujo de líquido comprende un primer canal capilar 803 que conduce hasta una primera válvula soluble 810. La válvula soluble 810 comprende una membrana 811 que tiene un primer y un segundo lado y los medios capilares están formados por un canal capilar 825 conectado al segundo lado de la membrana. La segunda válvula soluble 826 comprende una membrana 827 que tiene un primer y un segundo lado. El canal capilar 825 está conectado a un primer lado de la membrana y los medios capilares están formados por un canal capilar 828 conectado al segundo lado de la membrana. Hay previstos orificios 830 y 831 de ventilación cerca del primer lado de las respectivas membranas 811 y 827. Las membranas de las dos válvulas solubles están formadas por una única capa de película soluble que se extiende a lo largo de toda la estructura. La realización puede usarse en combinación con cualquiera de los dispositivos como se describe en la presente memoria, para proporcionar una temporización secuencial de las operaciones de flujo de fluido en los dispositivos.
55
60

5 Durante el funcionamiento, el líquido llena el canal capilar 803 y comienza a disolver la membrana 811 de la primera válvula soluble 810. Por tanto, la propagación del líquido se mantiene un periodo de tiempo correspondiente al tiempo necesario para disolver la membrana. Una vez que la membrana de la válvula se ha disuelto, el líquido es transportado a la segunda membrana soluble 827 por medio del canal capilar 825, y comienza a disolver la membrana. De nuevo, la propagación de líquido se mantiene un período de tiempo correspondiente al tiempo necesario para disolver la membrana, y una vez que la membrana de la válvula se ha disuelto, el líquido es transportado a través de la válvula y al canal capilar conectado al segundo lado de la membrana soluble 827.

10 En la Fig. 9 (a) se describe una sección transversal de un dispositivo microfluidico según una realización adicional. El dispositivo está provisto de un primer canal capilar 903 conectado a una primera válvula soluble 910. En el otro lado de la válvula soluble, se conecta un canal capilar 925, que conduce hacia una segunda válvula soluble 926 que tiene una membrana soluble 927 con un primer y un segundo lado, en donde el primer lado está orientado hacia el canal capilar 925 y el segundo lado está conectado a un medio capilar en forma de otro canal capilar 928. El canal capilar 925 se extiende más allá de la segunda válvula para formar un canal 929 de extremo muerto. Hay previsto un orificio 930 de ventilación de aire en la cámara de extremo muerto y un orificio 931 de ventilación de aire antes de la válvula 910. Este canal o cámara de extremo muerto está configurado de tal manera que el líquido que disuelve la membrana es transportado al canal de extremo muerto capilar por fuerzas capilares. Por lo tanto, el líquido cargado con material disuelto de la membrana puede ser conducido al canal de extremo muerto capilar para permitir que el líquido que tiene menos cantidad de material disuelto se propague a través de la válvula una vez disuelta.

20 En la Fig. 9 (b) el funcionamiento del dispositivo se ilustra en una secuencia de etapas. La primera válvula soluble se disuelve y el líquido es transportado al canal capilar 925. Al alcanzar la segunda válvula soluble, la membrana de esta válvula comienza a disolverse, mientras que el líquido todavía se propaga al canal de extremo muerto, arrastrando así cualquier material disuelto. Por lo tanto, una vez que la membrana de la segunda válvula soluble se ha disuelto, la mayor parte del material disuelto se acumula en el canal de extremo muerto, y el nuevo líquido comienza a propagarse en el canal capilar detrás de la segunda válvula soluble.

25 En la Fig. 9 (c), se muestra un ejemplo de un sistema de válvula soluble en cascada, estando provista cada válvula de un volumen de extremo muerto respectivo para acumular material disuelto de la membrana soluble respectiva. Cada volumen de extremo muerto también está provisto de un orificio de ventilación de aire para permitir el llenado capilar del canal y del volumen de extremo muerto. Por lo tanto, según esta realización, en cada membrana soluble, por ejemplo, a lo largo de una trayectoria de flujo de líquido en el dispositivo, el líquido cargado con material disuelto de la membrana puede ser conducido a un canal de extremo muerto capilar respectivo y ser acumulado para permitir que el líquido que tiene menos cantidad de material disuelto se propague a través de la membrana una vez disuelta, y a lo largo de todo el dispositivo.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo microfluídico (101, 501, 601) que comprende:
- un orificio (102, 502, 602, 702) de entrada para líquido,
 - 5 un canal capilar (103, 503, 603, 703, 903) adecuado para medir un volumen de líquido aspirado en el mismo por acción capilar desde el orificio de entrada, mientras está en conexión fluida con el orificio de entrada para recibir líquido procedente del orificio (102, 502, 602) de entrada, teniendo dicho canal capilar una parte (104, 504, 604) de entrada conectada al orificio de entrada, una porción (105, 505, 605, 605') de salida y un volumen definido,
 - 10 al menos una válvula soluble (107, 110, 507, 607, 610, 610', 707, 710, 910) que comprende una membrana soluble (108, 111) que tiene un primer lado orientado hacia el canal capilar de dosificación, y
 - medios capilares (109, 712), conectados al segundo lado de la membrana soluble de manera que cuando la membrana es disuelta por el líquido, el líquido es transportado a través de la válvula al segundo lado de la membrana por acción capilar,
 - 15 en donde la al menos una válvula soluble (107, 110, 507, 607, 710, 910) está en conexión capilar con la parte (105) de salida del canal capilar (103, 503, 603, 703), y dispuesta para transportar un volumen dosificado de líquido desde el canal capilar (103, 503, 603, 703) cuando la membrana (111, 711) está disuelta,
 - en donde el dispositivo microfluídico comprende un estratificado de capas de material que definen una trayectoria de flujo capilar para el líquido y que comprende al menos una capa de material soluble (117, 724) que forma la al menos una membrana soluble (108, 111), y en donde el dispositivo microfluídico comprende
 - 20 un orificio (113) de ventilación de aire antes de cada membrana soluble para permitir el llenado capilar de líquido hasta la membrana.
2. Un dispositivo microfluídico según la reivindicación 1, en donde el orificio (102) de entrada comprende una cámara (106) de entrada para recibir líquido, en donde una primera válvula soluble (107) está conectada a la cámara de entrada para transportar líquido desde la cámara de entrada cuando la membrana (108) está disuelta, en donde una
- 25 segunda válvula soluble (110) está en conexión capilar con la parte (105) de salida, y dispuesta para transportar líquido desde el canal capilar cuando la membrana (111) está disuelta, y en donde las membranas de las válvulas solubles y el canal capilar están configuradas de manera que la membrana de la primera válvula (108) se disuelve antes que la membrana de la segunda válvula (110) por un líquido suministrado al orificio (102) de entrada.
3. El dispositivo microfluídico según la reivindicación 1, en donde el orificio (102) de entrada comprende una cámara (106) de entrada para recibir líquido y en donde la al menos una válvula soluble (107) está conectada a la cámara de entrada, para transportar líquido desde la cámara de entrada cuando la membrana está disuelta.
- 30 4. El dispositivo microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde los medios capilares (109) comprenden un material absorbente poroso, preferiblemente una matriz de papel absorbente.
5. El dispositivo microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el dispositivo comprende una pluralidad de canales capilares (603) dispuestos en paralelo conectados a una pluralidad respectiva de válvulas solubles (607, 610, 610'), en donde los medios capilares de las válvulas solubles están conectados para recoger líquido procedente de las válvulas.
- 35 6. El dispositivo microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el dispositivo comprende una pluralidad de válvulas solubles (607, 610, 610'), distribuidas a lo largo de una trayectoria de flujo capilar de líquido en el dispositivo microfluídico, que comprende el canal capilar.
- 40 7. El dispositivo microfluídico según la reivindicación 6, en donde el canal capilar comprende una estructura (603) de canal capilar ramificado que comprende una pluralidad de brazos laterales conectados por capilaridad a la pluralidad de válvulas solubles.
8. El dispositivo microfluídico según la reivindicación 7, en donde los tiempos de disolución de la pluralidad de membranas solubles de las válvulas (107, 110d) se adaptan individualmente para proporcionar una temporización predeterminada de acontecimientos en el dispositivo microfluídico.
- 45 9. El dispositivo microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el primer lado de la al menos una membrana soluble de la válvula (927) está conectado a un canal (929) de extremo muerto capilar, configurado de tal manera que el líquido que disuelve la membrana es transportado al canal de extremo muerto capilar por fuerzas capilares.
- 50

10. El dispositivo microfluido según la reivindicación 1, en donde la trayectoria de flujo capilar en el dispositivo microfluido comprende canales capilares en ambos lados de la capa de membrana soluble, en donde se forma una pluralidad de válvulas solubles en cruces de trayectoria de flujo a través de la capa de membrana soluble.
- 5 11. El dispositivo microfluido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende una membrana de separación de plasma para separar plasma del líquido, siendo el líquido sangre completa.
12. El dispositivo microfluido según la reivindicación 1, formado como un estratificado (114, 115, 116) que comprende una primera capa de material que forma el canal capilar, una segunda capa (117) de material que comprende material soluble, para formar la al menos una membrana soluble, y una tercera capa de material (118) que comprende los medios capilares.
- 10 13. Un método para controlar un flujo de líquido en un dispositivo microfluido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende:
- proporcionar líquido en el orificio (102, 502, 602, 702) de entrada,
- recibir líquido desde el orificio de entrada para llenar el canal capilar (103, 503, 603, 703, 903) por acción capilar de manera que el líquido alcance la válvula soluble (107, 110, 507, 607, 610, 610', 707, 710, 910),
- 15 disolver la membrana (108, 111) de la válvula soluble por el líquido, y
- transportar el líquido a través de la válvula soluble al segundo lado de la membrana por medio de acción capilar en los medios capilares (109, 712).
14. El método según la reivindicación 13, que comprende definir y separar un volumen definido de líquido de un volumen indefinido de líquido proporcionado en el orificio de entrada, y eliminar el exceso de líquido del orificio de
- 20 entrada.

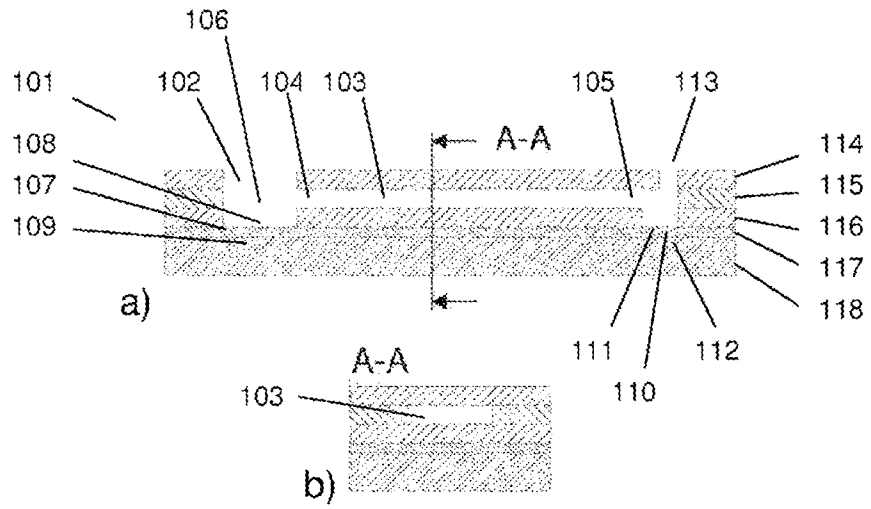


Fig. 1

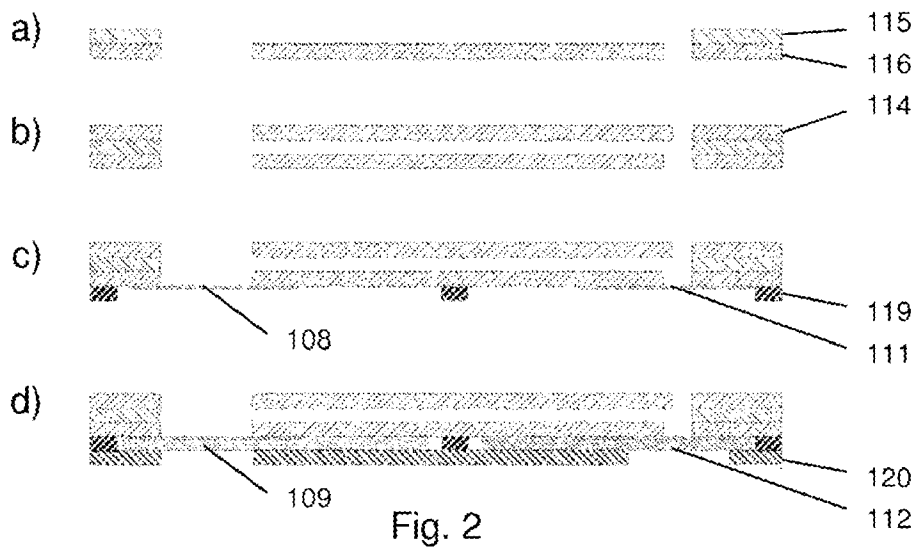


Fig. 2

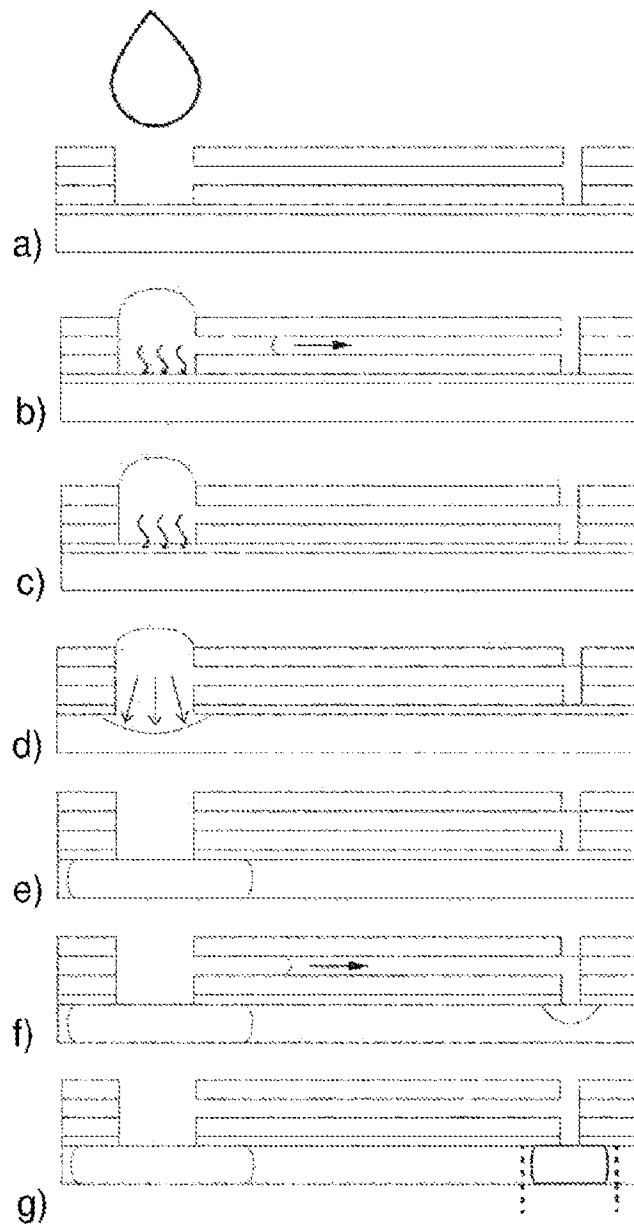


Fig. 3

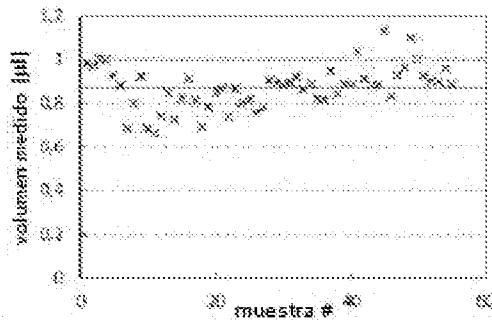


Fig. 4:

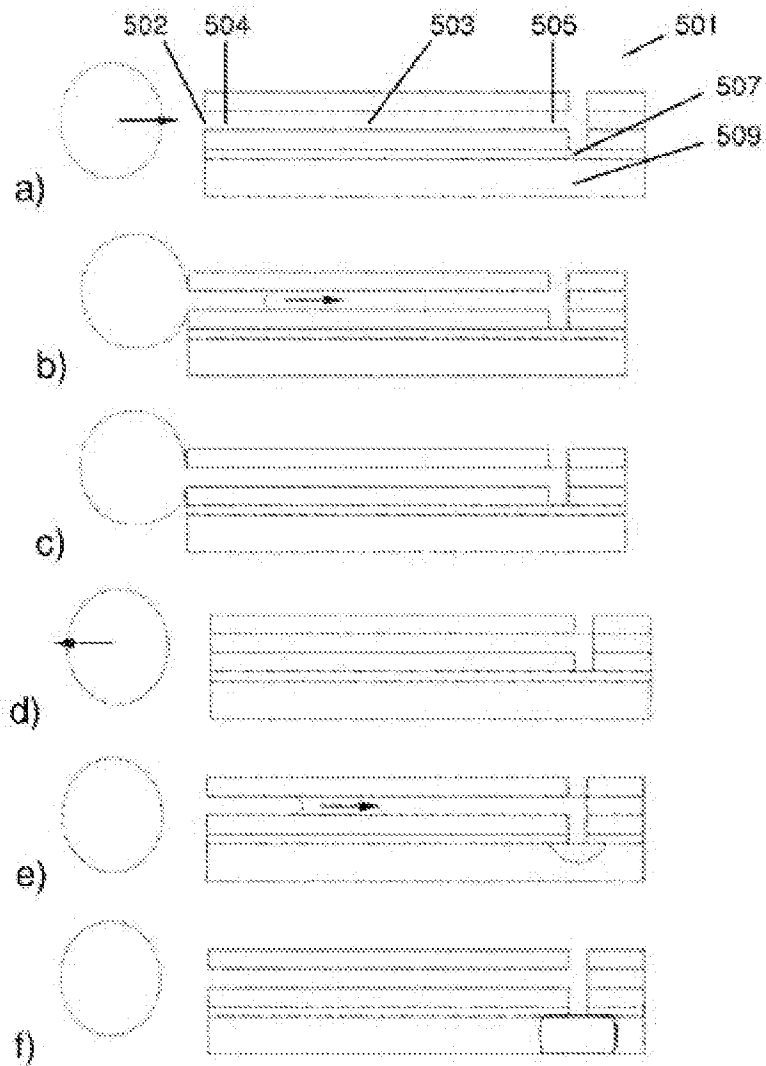


Fig. 5

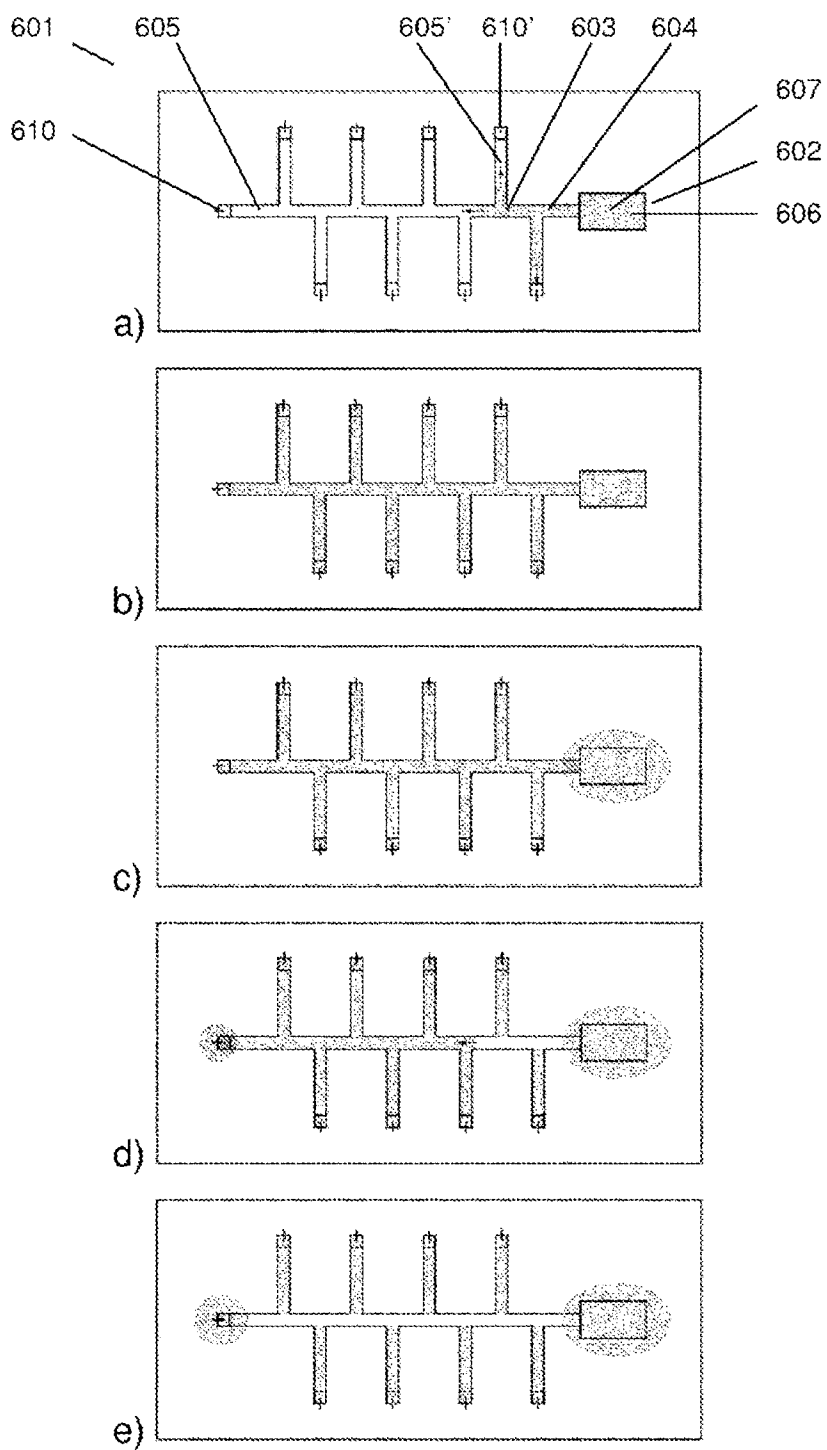


Fig. 6 (a)-(e)

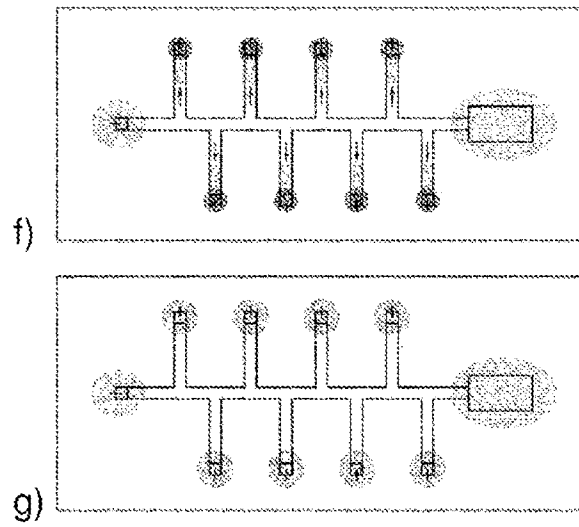


Fig. 6 (f)-(g)

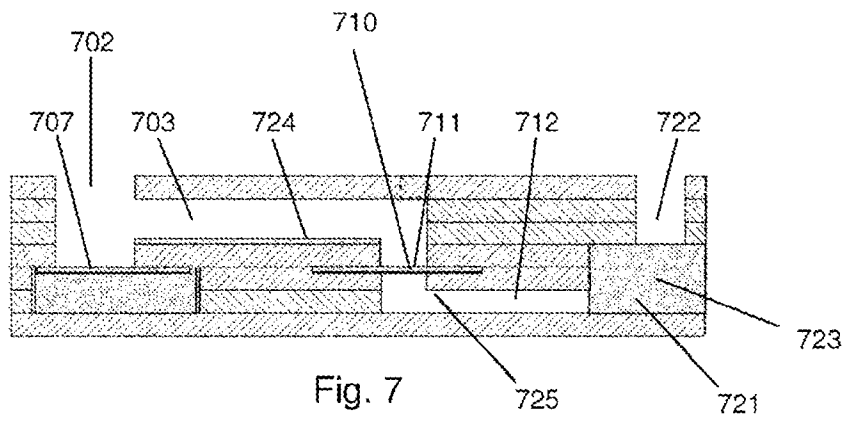


Fig. 7

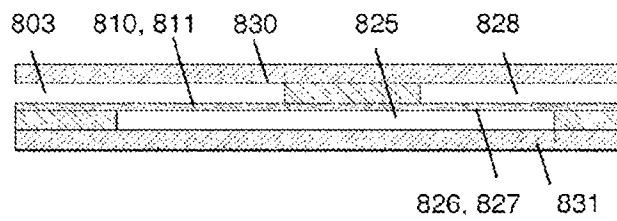


Fig. 8

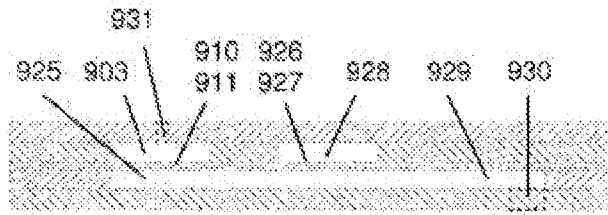


Fig. 9a

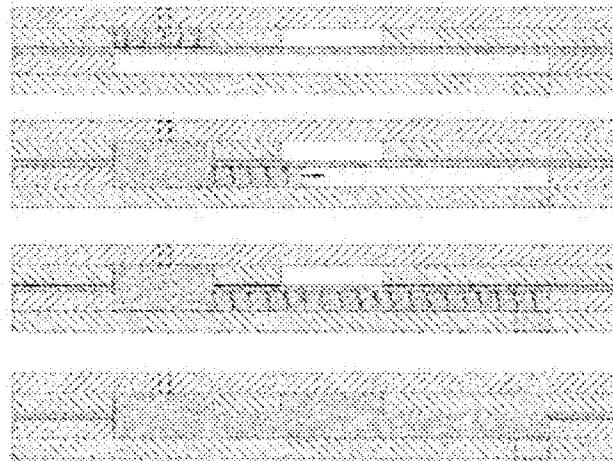


Fig. 9b

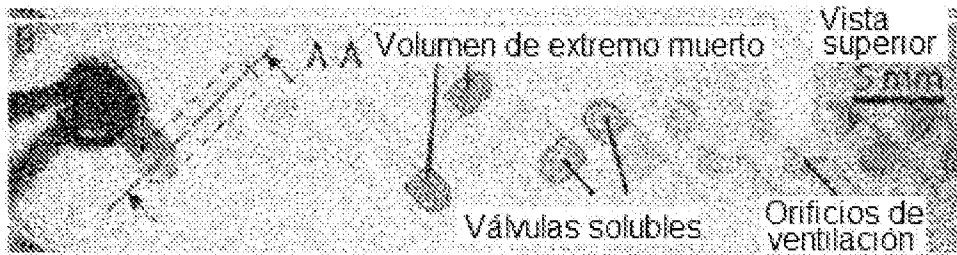
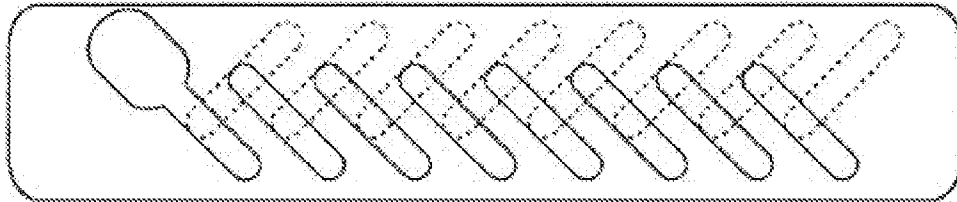


Fig. 9c