

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1999-1204**
(22) Přihlášeno: **07.04.1999**
(30) Právo přednosti: **08.04.1998 DE 1998/19815684**
(40) Zveřejněno: **17.11.1999**
(Věstník č. 11/1999)
(47) Uděleno: **22.12.2005**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **15.02.2006**
(Věstník č. 2/2006)

(11) Číslo dokumentu:

296 257

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)
B01L 11/00 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 33/52 (2006.01)

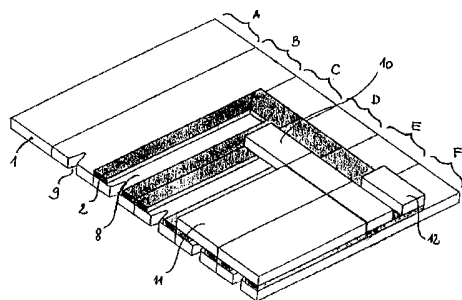
(73) Majitel patentu:
ROCHE DIAGNOSTICS GMBH, Mannheim, DE

(72) Původce:
Schwöbel Wolfgang, Mannheim, DE
Hein Bernd, Dossenheim, DE

(74) Zástupce:
JUDr. Jan Matějka, Národní 32, Praha 1, 11000

(54) Název vynálezu:
Způsob výroby analytického zařízení

(57) Anotace:
Při způsobu výroby analytického zařízení, zejména analytických zkušebních prvků, s kapilárně aktivní zónou (8) ke zkoumání tekutých vzorků se připraví nosná zóna (1) a distanční vrstva (2) se nalaminuje na nosnou vrstvu (1). Obrýs určující tvar kapilárně aktivní zóny (8), se vyrazí, vystřihne nebo prostřihne přes distanční vrstvu (2) nalaminovanou na nosnou vrstvu (1). Z nosné vrstvy (1) se odstraní části distanční vrstvy (2), které jsou nepotřebné pro vytlačování kapilárně aktivní zóny (8) a na distanční vrstvu (2) se přiloží krycí vrstva pro vytvoření kapilárně aktivní zóny (8).



CZ 296257 B6

Způsob výroby analytického zařízení

Oblast techniky

- 5 Vynález se týká způsobu výroby analytických zařízení s kapilárně aktivní zónou, s výhodou analytických zkušebních prvků ke zkoumání kapalinových vzorků. Zejména se vynález týká způsobu výroby analytických zařízení z páskového materiálu. Kromě toho se vynález týká analytických zařízení vyrobených způsobem podle vynálezu.

10 Dosavadní stav techniky

- 15 Tak zvaných testů vázaných na nosič (nosiče, zkušební prvky) se často používá ke kvalitativnímu a kvantitativnímu analytickému stanovení složek kapalinových vzorků, například tělních tekutin, jako je krev, sérum nebo moč. Při těchto testech jsou reakční činidla zabudována do odpovídajících vrstev pevného nosiče, který přijde do styku s kapalným vzorkem. Jeli přítomen cílený analyt, vede reakce kapalného vzorku a reakčního činidla ke zjistitelnému signálu, kterým je zpravidla přesmyk barvy, který může být vyhodnocen vizuálně nebo pomocí přístroje, například reflexní fotometrií.

- 20 Zkušební prvky nebo zkušební nosiče mají často formu zkušebních proužků, které sestávají z prodloužené podložní vrstvy z plastického materiálu a z detekčních vrstev jakožto zkušebních zón, které jsou k němu připevněny. Jsou však také známy zkušební nosiče, které mají tvar čtvercových oplátek.

- 25 Zkušební prvky ke klinické diagnostice, které se vyhodnocují vizuálně nebo reflexní fotometrií, jsou často konstruovány tak, že aplikační zóna vzorku a detekční zóna jsou uspořádány nad sebou ve svislé ose tak, že se například vzorek nanese shora na aplikační zónu vzorku a změna barvy se pozoruje zespodu. Tato konstrukce je problematická. Má-li být zkušební proužek s naneseným vzorkem vložen do přístroje, například detekčního fotometru k měření, může se případný infekční materiál vzorku dostat do styku s díly přístroje a může je kontaminovat. Kromě toho lze objemového dávkování dosáhnout pouze s obtížemi, zejména v případech, kdy zkušebních proužků používá neškolená osoba, například při osobní kontrole cukru v krvi u diabetiků. Kromě toho vyžadují běžné zkušební prvky poměrně velké objemy vzorku vzhledem k jejich konstrukci, aby umožnily spolehlivá měření, čím větší objem vzorku se požaduje, tím obtížnější může být pro pacienta shromáždění vzorku, jehož krev má být zkoumána. Cílem proto je poskytnout zkušební proužky, které vyžadují co nejmenší množství vzorkového materiálu.

- 40 Jedním ze způsobů spolehlivého dávkování malých množství, je použití analytických zkušebních prvků s kapilárně aktivními zónami, zpravidla o několika mikrolitrech objemu vzorku a jeho přepravení uvnitř zkušebního prvku. Takové zkušební prvky jsou popsány v dosavadním stavu techniky.

- 45 Evropský patentový spis číslo EP-B-O 138 152 se týká vyjímatelné kyvety, která je vhodná k téměř současnému vložení kapalného vzorku do vzorkové komůrky pomocí kapilárního otvoru a změření. Reakční činidla mohou být uvnitř dutého prostoru kapiláry. Dutý prostor je alespoň zčásti vymezen polopropustnou membránou. Reakční činidla mohou být například uložena v dutém prostoru povlečením stěn nebo začleněním těchto reakčních činidel do polopropustné membrány.

- Evropský patentový spis číslo EP-A-O 287 883 popisuje zkušební prvek, který používá kapilárního meziprostoru mezi detekční vrstvou a vnitřním nosičem pro objemové dávkování.

- 50 K naplnění kapilárního prostoru je zkušební prvek ponořen do zkoumaného vzorku, což vyžaduje velké objemy vzorku a je důvodem, proč se tohoto typu objemového dávkování s výhodou používá ke zkoumání vzorkového materiálu, který je obsažen v nadbytku, jako je moč.

Analytický zkušební prvek s kapilární aktivní zónou je znám také z evropského patentového spisu číslo EP-A-O 212 314. K výrobě tohoto zkušebního prvku se navrhuje umístit mezilehlou vrstvu, která obsahuje ústřížek odpovídající kapilárně aktivní zóně mezi dvě plastické vrstvy. Podle evropského patentového spisu číslo EP-A-O 212 314 má ústřížek být vždy obsažen v mezi-
5 vrstvě před sestavením. Zejména použije-li se ohebných mezivrstev, jako jsou například oboustranné lepicí pásy, je obtížné sestavit analytický prvek, jelikož přesné a reprodukovatelné umístění mezivrstvy, která už obsahuje výstřížek, je obtížné a složité se provádí.

- 10 Americký patent US 4 790 640 se týká zlepšeného laboratorního sklíčka a způsobu výroby a použití tohoto sklíčka, přičemž sklíčko je určeno pro provádění analýzy as/nebo testování kapalných vzorků apod. Sklíčko je tvořeno transparentním horním krycím sklíčkem fixovaným ke spodnímu podložnímu sklíčku pomocí tenkého tenké vrstvy pojiva, jejíž tloušťka je regulována tak, že může být v podstatě monocelulární tloušťkou řádově přibližně 0,025 mm nebo méně. V některých případech je pojivo tvarováno tak, že spolupracuje s podložním sklíčkem a s krycím sklíčkem tak, že definuje jednu nebo více zkušebních komůrek, do kterých mohou zkušební vzorky
15 v důsledku kapilárního účinku proudit za účelem analýzy. U dalších provedení pojivo definuje jeden nebo více podélných průtokových kanálků, skrze který může vzorek proudit, přičemž tyto průtokové kanálky mohou mít různé šířky a/nebo zahrnují zvolená činidla podél své délky, takže zde lze provádět zvolené testy biologických vzorků apod.

- Americký patent US 4 447 140 se týká multikomorového sklíčka majícího základní desku; množinu vzájemně oddělených přepážek fixovaných k základní desce, přičemž každý sousedící pár přepážek definuje oblast, která může obsahovat kapalný vzorek, každá přepážka má pár vzájemně
25 odsazených prvků, mezi kterými je definována hraniční zóna pro zachycení vzorku, který může vytékat z oblasti definované párem přepážek, přičemž všechny prvky mají v podstatě stejnou tloušťku a jsou potaženy adhezivem, a krycí desku fixovanou k vzájemně odsazeným prvkům přepážek tak, že definuje množinu prostorových komor, do nichž lze zavádět kapalně vzorky.

- 30 Je třeba poznamenat, že žádný z výše jmenovaných amerických patentů nepopisuje ani nenavrhuje testovací prvek, který by se vyrobil způsobem podle předloženého vynálezu.

- Úkolem vynálezu je eliminovat nedostatky dosavadního stavu techniky. Zejména se vynález týká způsobu, kterým se dají analytická zařízení pořídit levně, reprodukovatelně a přesně.
35

Podstata vynálezu

Způsob výroby analytických zařízení s kapilárně aktivní zónou spočívá podle vynálezu v tom, že

- (a) se připraví nosná zóna,
40 (b) na nosnou vrstvu se nalaminuje distanční vrstva,
(c) přes distanční vrstvu nalaminovanou na nosnou vrstvu se vyrazí, vystříhne nebo prostříhne obrys určující tvar kapilárně aktivní zóny,
(d) z nosné vrstvy se odstraní části distanční vrstvy, které jsou nepotřebné pro vytlačování kapilárně aktivní zóny a
45 (e) na distanční vrstvu se přiloží krycí vrstva pro vytvoření kapilárně aktivní zóny.

- Podle jednoho provedení se jako distanční vrstva použije oboustranně lepicí páska, přičemž krycí vrstva může být složena z jedné nebo několika částí. Výhodně krycí vrstva sestává alespoň částečně z analytického detekčního filmu.
50

Podle jednoho provedení je analytickým zařízením analytický zkušební prvek.

Podle výhodného provedení se distanční vrstva nalaminuje na nosnou vrstvu bezprostředně před vyražením, vyřezáním nebo prostřížením obrysu kapilárně aktivní zóny a části distanční vrstvy, které nejsou určeny pro vytvoření kapilárně aktivní zóny, se odstraní okamžitě po vyražení, vyřezání nebo prostřížení obrysu kapilárně aktivní zóny.

Podle dalšího provedení mají nosná vrstva, distanční vrstva a krycí vrstva tvar pásku.

Podle jednoho provedení se obrys vytvoří kontinuálním vyřezáním rotačním řezným nástrojem a jako rotační řezný nástroj se použije řezný buben a přitlačný válec.

Je výhodné, pokud se analytické zařízení oddělí vyřezáním nebo vyražením po nanesení krycí vrstvy.

Analytickým zařízením ve smyslu vynálezu se rozumí zařízení, které může automaticky pojmout kapalný vzorek pomocí své kapilárně aktivní zóny, tedy kapilárními silami a připravit je k současné nebo pozdější analýze. Kapilárně aktivní zónou může být kapilární mezera nebo prostory tvořené kapilárně aktivními porézními materiály, jako jsou například rouno, papír nebo membrány.

Analytickým zařízením mohou být s výhodou analytické zkušební prvky, ve kterých probíhají vhodné detekční reakce, které umožní určit přítomnost nebo množství analytu ve vzorku již během odběru vzorku kapaliny nebo po něm. Analytickým zařízením mohou být také kyvety nebo pipety, které pouze uskuteční odběr vzorku kapilární zónou a ze kterých je vzorek buď opět vypuštěn pro analýzu, nebo ve kterých se analýza objeví bez následných reakcí. Analytického zařízení může být ovšem také použito k uskladnění a podržení vzorkových tekutin.

Přítomnost kapilárně-aktivní zóny v analytických zařízeních, vyrobených způsobem podle vynálezu, umožňuje automatický odběr definovaného objemu vzorku, je-li kapilárně aktivní zóna vyrobena s dostatečnou přesností a reprodukovatelností. Kapilárně aktivní zóna může mít jakýkoli potřebný tvar za podmínky, že je zaručena kapilarita alespoň v jednom směru. Kapilárně aktivní zóna může mít například tvar trojúhelníku, čtverce nebo kruhové úseče a hrany obvodových oblastí jsou s výhodou zaobleny jako opatření proti riziku zbytků lepidla v kapilárně aktivní zóně. Kapilárně aktivní zóny mají s výhodou podle vynálezu v podstatě krychlový tvar se základnou v podstatě čtvercovou.

Jako nosná vrstva k vytvoření analytického zařízení mohou sloužit různé materiály, které se obvykle používají k výrobě analytických zařízení, jako jsou například kovové nebo plastové fólie, povlečené papíry nebo lepenky a sklo, ačkoli je méně používáno. Používá-li se analytického zařízení ke zkoumání nepolárních kapalin, dosahuje se přiměřené kapilarity kapilární zóny analytického zařízení, vyrobeného podle vynálezu použitím vrstev nepolárního nosiče, například plastových fólií. K dosažení přiměřené kapilarity při zkoumání vodných vzorků, jako jsou například vodné vzorky nebo biologické tekutiny, jako je krev, sérum, moč, sliny nebo pot, je výhodné, má-li použitý nosný materiál hydrofobní povrch alespoň na straně směřující ke kapilárně aktivní zóně.

V této souvislosti jsou hydrofilní povrchy vodu přitahujícími povrchy. Vodné vzorky, také včetně krve, se na tomto povrchu dobře rozptylují. Oproti jiným povrchům se tyto povrchy vyznačují tím, že vodní kapka, na ně nanesená, vytvoří ostrý okrajový úhel nebo kontaktní úhel na mezivrstvě (například podrobnosti pod nadpisem "Benetzung" [smáčení] v "SD Römpf Chemie Lexikon" verze 1, 0, 1995). Na rozdíl od toho se vytváří tupý okrajový úhel na mezivrstvě mezi kapkou vody a hydrofobním povrchem, tedy povrchy odpuzujícími vodu.

Kontaktní úhel, který je výsledkem povrchového napětí zkušební kapaliny na zkoumaném povrchu, je mírou hydrofility povrchu. Voda má například povrchové napětí 72 mN/m. Je-li hodnota

povrchového napětí pozorovaného povrchu hodně pod touto hodnotou, například o více než 20 mN/m pod touto hodnotou, je smáčení slabé a výsledný kontaktní úhel je tupý. Takovému povrchu se říká hydrofobní. Blíží-li se povrchové napětí hodnotě nalezené pro vodu, je smáčení dobré a kontaktní úhel je ostrý. Je-li naopak povrchové napětí stejné nebo vyšší než hodnota nalezená pro vodu, kapka se rozplyne a jde o totální rozptýl kapaliny. Pak už není možno kontaktní úhel měřit. Povrch, který vytváří ostrý kontaktní úhel s kapkou vody, nebo u kterého se pozoruje rozptýlení vodní kapky, se označuje jako hydrofilní.

Schopnost kapiláry nasát vodu závisí na smáčivosti kapilárního povrchu kapalinou. To znamená pro vodné vzorky, že kapilára má být zhotovena z materiálu, jehož povrchové napětí téměř dosahuje hodnoty 72 mN/m nebo tuto hodnotu přesahuje.

Dostatečně hydrofilním materiálem ke konstrukci kapiláry, která rychle nasaje vodné vzorky je například sklo, kov nebo keramika. Tyto materiály se však často nehodí k použití v analytických zařízeních, jako jsou testovací nosiče, jelikož mají několik nevýhod, jako je v případě skla nebo keramiky riziko rozbití, nebo změny povrchových vlastností s časem v případě čtených kovů. Proto se k výrobě analytických zařízení používá obvykle plastových fólií nebo lisovaných dílů. Používané plasty sotva dosahují povrchového napětí 45 mN/m. Včetně v relativním smyslu nejvíce hydrofilních plastů, jako je poly-methylmethakrylát (PMMA) nebo polyamid (PA) je pouze možno, pokud vůbec, konstruovat kapiláry, které nasávají velmi pomalu. Kapiláry zhotovené z hydrofobních plastů, jako jsou například polystyren (PS), polypropylen (PP) nebo polyethylen (PE), prakticky vodné vzorky nenasávají. Proto je nutno vybavit plasty, použité jako konstrukčního materiálu na analytická zařízení, kapilárně aktivní zónou, jako jsou například zkušební prvky s kapilární mezerou, s hydrofilními vlastnostmi, tedy hydrofilizovat je.

Ve výhodném provedení analytických zařízení, vyrobených podle vynálezu, se hydrofilizuje alespoň jeden, ale s výhodou dva protilehlé povrchy, které tvoří vnitřní povrch kanálku schopného přenášet kapilární kapalinu. Jestliže se hydrofilizuje více než jeden povrch, mohou být povrchy hydrofilizovány stejným nebo odlišným způsobem. Hydrofilizace je zejména nutná, jestliže materiály, vytvářející kapilárně aktivní kanál, zejména nosná vrstva, jsou samy hydrofobní nebo velmi mírně hydrofilní, jelikož jsou například zhotoveny z nepolárních plastů. Nepolární plasty, jako například polystyren (PS), polyethylen (PE), polyethylentereftalát (PET) nebo polyvinylchlorid (PVC), jsou výhodné jako nosičové materiály, jelikož neabsorbují zkoumané vodné kapaliny a nejsou jimi napadány. Hydrofilizace povrchu kapilární zóny umožňuje polárnímu, s výhodou vodnému kapalnému vzorku, vstoupit do kapilárně aktivní zóny. Je-li analytickým prvkem testovací prvek, přenesení se dodatečně volný vzorek rychle na detekční prvek nebo do místa detekčního prvku, kde dochází k detekci.

Ideálně se dosahuje hydrofilizace povrchu povrchově aktivní zóny pomocí hydrofilních materiálů při jejich výrobě, které samy o sobě nemohou absorbovat tekutý vzorek nebo jen v nepatrné míře. V případech, kdy to není možné, mohou být hydrofilizovány hydrofilní nebo velmi slabě hydrofilní povrchy vhodným povlakem stabilně hydrofilní vrstvy, která je inertní vůči materiálu vzorku, například kovalentní vazbou fotoreaktivních hydrofilních polymerů na plastový povrch, nanášením vrstev obsahujících smáčecí činidla nebo povlečením povrchu nanokompositu sol-gelovou technologií. Kromě toho je také možno zvýšit hydrofilitu tepelným nebo chemickým zpracováním povrchu.

Hydrofilizace se obzvlášť výhodně dosahuje použitím tenkých vrstev oxidovaného hliníku, jak je to opsáno v německé přihlášce vynálezu číslo P19753848.7. Tyto vrstvy se nanášejí buď přímo na žádané součásti testovacího prvku, například vakuovým pokovením pracovních kusů hliníkem a následnou oxidací kovu, nebo použitím kovových fólií nebo pokovených plastů ke konstrukci nosičů vzorků, které se také oxidují k dosažení hydrofility. V tomto případě jsou přiměřené tloušťky kovu 1 až 500 nm. Kovový povrch se pak oxiduje k vytvoření oxidované formy, přičemž se jako obzvlášť vhodný způsob osvědčila oxidace v přítomnosti vodní páry nebo vyvaření

ve vodě, vedle elektrochemické, anodické oxidace. Oxidová vrstva, vytvořená tímto způsobem, je silná 0,1 nm až 500 nm s výhodou 10 nm až 100 nm, v závislosti na použitém způsobu. V zásadě lze v praxi docílit větších tloušťek kovové vrstvy stejně jako oxidové vrstvy, nepřináší to však žádnou dodatečnou výhodu.

5

Kapilární zónu analytického zařízení tvoří podle vynálezu nosná vrstva, distanční vrstva a krycí vrstva, čelem distanční vrstvy je s výhodou definovat rozměr, jehož výsledkem je kapilarita zóny. Tloušťky distanční vrstvy se používá s výhodou k definování tohoto rozměru. Je však také možno vyrazit nebo vystříhnout z distanční vrstvy kus vhodné šířky, přičemž výsledkem je zóna kapilárně aktivního rozměru. Alespoň jeden rozměr zóny je definován fyzikálními mezemi kapilární aktivity. V případě vodných kapalin má tento rozměr řádově 10 μm až 500 μm , s výhodou 20 μm až 300 μm a nejvýhodněji 50 μm až 200 μm , jelikož jinak by nebyla kapilární aktivita patrná.

10

Také distanční vrstva může být v zásadě vyrobena ze všech materiálů, které jsou netečné vůči kapalnému vzorku určenému k analýze. Osvědčila se oboustranně lepidlá páska, jelikož jednoduše řeší jednak problém připevnění distanční vrstvy k nosné vrstvě, jednak připevnění krycí vrstvy. Tím se lze vyhnout časově náročnému lepení ve výrobě analytického zařízení. Jestliže se však této výhody nevyužije, může být distanční vrstva zhotovena podle vynálezu pomocí přídavného vazebního procesu, například svaření, tepelného utěsnění například polyethylenem, lepením za studena tuhoucím lepidlem nebo lepidlem taveným za tepla nebo přitisknutím nosné vrstvy k distanční vrstvě nebo distanční vrstvy ke krycí vrstvě. V této souvislosti může být distanční vrstva zhotovena z materiálů, které jsou také vhodné pro krycí vrstvu.

15

20

Jelikož distanční vrstva spolu s nosnou a krycí vrstvou určují geometrii kapilárně aktivní zóny, zavede se obrys do distanční vrstvy při způsobu podle vynálezu poté, když byla distanční vrstva nanášena na nosnou vrstvu, což umožňuje těm částem distanční vrstvy, které nejsou požadovány k vytvoření geometrie kapilárně aktivní zóny, aby se znovu z nosné vrstvy sejmuly. Příkladem je ta část distanční vrstvy, která tvoří kapilární oblast analytického zařízení po oddělení od nosné vrstvy.

25

Obrys může být v zásadě zaveden distanční vrstvou pomocí všech způsobů, které umožňují čisté oddělení části distanční vrstvy, která zůstává na nosné vrstvě od těch částí, které mají být odděleny od nosné vrstvy. Příkladem je vyrážení, vyřezávání nebo prostřihování, přičemž se podle vynálezu přednost dává vyrážení nebo vyřezávání. Jako obzvláště výhodné pro čisté oddělování distanční vrstvy, ulpělé na nosné vrstvě, se ukázalo oddělování od částí, které mají být z krycí vrstvy odstraněny, jestliže obrys je vystřížen přes distanční vrstvu a tím se mírně zastříhne do nosné vrstvy, přičemž se musí dávat pozor, aby řez v nosné vrstvě nebyl tak hluboký, že by ji neučinil nestabilní. Tomu se dá snadno zabránit vhodnými přesnými řeznými nástroji.

30

35

Ve výhodném provedení analytického zařízení, u kterého je distanční vrstva vytvořena oboustranně lepidlovou lepicí páskou, se ukázalo jako výhodné laminovat distanční vrstvu na nosnou vrstvu bezprostředně před vyrážením, vyřezáváním nebo prostřihováním obrysu kapilárně aktivní zóny a odstranění těch částí distanční vrstvy, které nemají vytvářet kapilárně aktivní zónu bezprostředně po vyrážení, vyřezáváním nebo prostřihováním obrysu kapilárně aktivní zóny. Když se uvedené díly odstraňují, vyloučí se problémy, jako jsou například zbytky zůstávající v kapilárně aktivní zóně nebo vázající části distanční vrstvy, oddělené vyrážením, vyřezáváním nebo prostřihováním. Kromě toho se s překvapením zjistilo, že okraje vyříznuté plochy v distanční vrstvě jsou relativně hladké ve srovnání s použitím předběžně vyražených lepicích pásek a jsou vhodné pro kapilaritu.

40

45

Při použití výhodné oboustranně lepidivé pásky jako distanční vrstvy je nutné, po odstranění částí lepicí pásky, jež nejsou požadovány, a před nanášením krycí vrstvy, odstranit krycí fólii (interliner) lepicí pásky, která je obecně obsažena k umožnění vazby krycí vrstvy.

50

Všechny materiály, které se také hodí na krycí vrstvu, se hodí jako krycí vrstva kapilárně aktivní zóny analytického zařízení, vyrobeného podle vynálezu. Analytické zařízení může pak sestávat z identických materiálů pro nosnou vrstvu, distanční vrstvu a krycí vrstvu, avšak možné jsou také jakékoli kombinace materiálů. Ve výhodném případě, kdy se analytického prostředku používá k optickému zkoumání vzorkového materiálu, je výhodné, jsou-li alespoň nosná vrstva a nebo krycí vrstva nebo obě tyto vrstvy úplně nebo zčásti vyrobeny z průhledného materiálu, s výhodou z průhledného plastu.

Ve výhodném případě, kdy je způsobu podle vynálezu použito k výrobě analytického zkušebního prvku, použije se vrstvy z jednoho kusu jako nosné vrstvy, zatímco krycí vrstva může sestávat z jednoho nebo z několika dílů. Krycí vrstva může zčásti nebo úplně sestávat z analytického detekčního filmu, jak je to popsáno například v německé přihlášce vynálezu číslo P 196 29 656.0.

Tento detekční film sestává ze dvou vrstev filmu na průhledné fólii a film jako celek obsahuje všechny reakční a pomocné látky potřebné k analytické detekční reakci se vzorkovou kapalinou. Takové reakční látky jsou pracovníkům v oboru známy v četných variantách pro četné analýzy, například z německé přihlášky vynálezu číslo P 196 29 656, 0. Reakční a pomocné látky, obsažené v detekčním filmu, vedou s výhodou ke kvalitativnímu a kvantitativnímu signálu, který může být zaznamenán vizuálně nebo opticky pomocí přístroje, když je cílový analyt obsažen ve zkoumaném kapalném vzorku.

Významným znakem detekčního filmu, kterému se dává přednost ve výhodném provedení analytického zkušebního prvku, je, že první vrstva, ležící na průhledné fólii, rozptyluje světlo daleko méně než překrývající druhá vrstva. Zatímco první vrstva obsahuje nadouvadlo, jako je kopolymer methylvinyletheru a maleinové kyseliny, a případně plnidlo slabě rozptylující světlo, vyžaduje druhá vrstva nadouvadlo a v každém případě alespoň jeden světlo rozptylující pigment a může tedy obsahovat přidavně neporézní plnidla a porézní plnidla, jako je křemelina, v malých množstvích, aniž se stane prostupnou pro příslušné složky vzorku, jako jsou erythrocyty.

Jelikož plnidla slabě rozptylující světlo a pigmenty světlo silně rozptylující jsou v podstatě zodpovědné za optické vlastnosti vrstvy filmu, obsahuje první a druhá vrstva filmu různá plnidla a pigmenty. První vrstva filmu nemá buď, obsahovat žádné plnidlo, nebo plnidla, jejichž index lomu je blízký indexu lomu vody, například oxid křemičitý, křemičitany a hlinitokřemičitany. Průměrná velikost obzvláště výhodných částic plnidla je přibližně 0,06 μm . Druhá vrstva má s výhodou velmi silně rozptylovat světlo. Index lomu pigmentů druhé vrstvy filmu je ideálně nejméně 2,5. Používá se tudíž s výhodou oxidu titaničitého. Částice s průměrnou velikostí přibližně 0,2 až 0,8 μm se osvědčily jako nejvýhodnější.

Dále se ukázalo jako výhodné při použití detekčního filmu, je-li krycí vrstva s výhodou opatřena přidavnou krycí fólií, která s výhodou přiléhá těsně k detekčnímu filmu, a jako taková, je na straně nosné vrstvy, která je odvrácená od kapilární zóny. Krycí fólie nahrazuje detekční prvek na části kapilární zóny. Jelikož detekční prvek obsahuje obvykle cenná reakční činidla, jako jsou enzymy, a vzhledem k jeho často komplexní struktuře je jeho výroba značně nákladnější než výroba jednoduché krycí fólie, takže toto opatření značně snižuje materiálové a výrobní náklady. To platí zejména u dlouhých kapilárních zón v délce větší než 5 mm. Kromě toho u zkušebních prvků, kde se zjišťuje detekční reakce v detekčním filmu v prostorově přesně vymezené oblasti, například v případě optické detekce v přístroji, a ve kterém je žádoucí oddělit aplikační zónu vzorku od detekční zóny, například z důvodů hygieny přístroje, umožňuje toto opatření urychlený transport vzorku z otvoru pro aplikaci vzorku ve zkušebním prvku na detekční místo v detekčním prvku, takže transport vzorku v kapilárním kanálku z aplikační zóny vzorku do detekční oblasti je tak rychlý, že nevznikne žádné časové omezení při analýze vzorku. Kromě toho takové uspořádání je pro obsluhu pohodlnější.

Krycí vrstva a detekční film se sestavují tak, že k sobě přiléhají v konečném zkušebním prvku tak, že transport kapaliny je nepřerušen v kapiláře na straně styku krycí fólie a detekčního filmu například nevhodnou změnou kapilárního průřezu, který také zahrnuje přerušení kontinuálního hraničního povrchu kapiláry. K tomu účelu má být rozměr detekčního filmu vhodně přizpůsoben krycí fólii. Není-li možno sestavit k sobě obě součásti dostatečně těsně, může být přerušení kapilárně aktivní zóny zabráněno následným utěsněním.

S překvapením se zjistilo, že u zvláště výhodného provedení zkušebního prvku, vyrobeného způsobem podle vynálezu, může být dodatečně vmontována ohebná vkladací fólie na straně krycí fólie, přivrácené ke kanálku schopnému transportu tekutiny, který se rozprostírá na celé délce krytu, kryje kapilární zónu po celé její šířce a je alespoň částečně uzavřen mezi protilehlé okrajové povrchy krycí fólie a detekčního filmu, takže kapilární transport kapaliny se nezruší v kontaktním místě detekčního filmu a krycí fólie. Materiál a případně hydrofilizující povlak fólie může v podstatě odpovídat shora popsanému materiálu pro nosnou vrstvu a krycí vrstvu. V této obzvláště výhodné variantě provedení jsou detekční film a krycí fólie také sestaveny k sobě tak těsně, jak je možno.

Způsobu podle vynálezu se s výhodou používá k výrobě analytických zařízení ve velkém počtu, takže způsob může být automatizován. K tomu účelu jsou materiály pro analytická zařízení, jako jsou nosná vrstva, distanční vrstva a krycí vrstva, zajišťovány ve formě páskového materiálu podobného svítku filmu. Obrys, který vymezuje tvar kapilárně aktivní zóny, je s výhodou proříznut distanční vrstvou, která je laminovaná na nosnou vrstvu pomocí rotačního nože, který s výhodou obsahuje řeznou kladku a protilehlý přítlačný válec. Výsledkem je s výhodou kontinuální řez na distanční vrstvě nebo skrz distanční vrstvu, která má přesnou a reprodukovatelnou relativní polohu na kontinuální pásce a v důsledku toho na analytickém zařízení, vyrobeném způsobem podle vynálezu.

Při tomto výhodném způsobu podle vynálezu jsou analytická zařízení, například analytické zkušební prvky, oddělovány po nanesení krycí vrstvy prostřihováním nebo probíjením, tedy odděleně od předchozí formy pásku jako s výhodou úzké, v podstatě pravoúhlé pásy. Výroba podle vynálezu může tudíž probíhat v jedné operaci s vysokou produkční rychlostí (0,1 m/min až přibližně 50 m/min).

Výhody vynálezu lze shrnout do následujících bodů:

- Je umožněn automatický výrobní proces a výrobní náklady na jednotlivá analytická zařízení zůstávají nízké.
- Poloha a velikost kapilárně aktivní zóny na analytickém zařízení jsou přesně a reprodukovatelně zajišťovány, jejich poloha vůči ostatním funkčním součástem analytického zařízení může být snadno nastavována a je reprodukovatelná.
- Kapilárně aktivní zóna má přesné a čistě definované rozhraní s dělicí vrstvou, což umožňuje přesné nastavení kapilárních vlastností.

Vynález blíže objasňuje následující podrobný popis praktického provedení pomocí přiložených obrázků.

Přehled obrázků na výkresech

Obr. 1 schematicky znázorňuje část automatické výroby analytického zařízení ve výhodném provedení podle vynálezu;

obr. 2 schematicky znázorňuje 6 stupňů (A až F) výroby analytického zařízení ve výhodném provedení podle vynálezu;

obr. 3 schematicky znázorňuje v rozloženém stavu výhodné provedení analytického zařízení, které může být vyráběno způsobem podle vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

5

Část automatické výroby analytických zařízení a zejména analytických zkušebních prvků podle obzvlášť výhodné varianty způsobu podle vynálezu je znázorněna na obr. 1. Na obr. 1 je patrná nosná vrstva 1, na kterou se právě nanáší distanční vrstva 2 ve formě oboustranně lepidivé pásky v bezprostředně předchozím výrobním kroku, přičemž páska přichází zleva a je automaticky vedena doprava. Při tomto procesu prochází laminát složený z nosné vrstvy 1 a distanční vrstvy 2 rotačním řezacím nástrojem sestávajícím z řezného bubnu 3 a z přitlačného válce 4, které vykrajují obrys ve tvaru obdélníku přes distanční vrstvu 2 pomocí řezacího bubnu 3, který určuje geometrii kapilárně aktivní zóny konečného analytického zkušebního prvku. Těsně za rotačním řezacím nástrojem tvořeným řezným bubnem 3 a přitlačným válcem 4 je zbytek 5 distanční vrstvy 2 odlupován od nosné vrstvy 1. Odtahovací kladka 6, která prochází napříč v tomto procesu zaručuje, že zbytek 5 distanční vrstvy 2, který se odloupne, je odlupován čistě a beze zbytků ve směru vystřižené kapilární geometrie beze zbytku 5 taženého během odlupování. Velmi úzký zbytek 5 distanční vrstvy 2 může být tímto způsobem reprodukovatelně a spolehlivě odstraňován. Výřez 7 v distanční vrstvě 2, který zůstává na nosné vrstvě, určuje v podstatě geometrii kapilárně aktivní zóny 8, která je tvořena následujícím pokrytím distanční vrstvy 2 krycí fólií, která není na tomto obrázku znázorněna, přičemž je mezivrstva lepicí pásky odstraňována bezprostředně před nanášením na krycí fólii. Jednotlivé zkušební prvky, z nichž každý má kapilárně aktivní zónu 8 se získají na konci výrobního procesu z kontinuálního pásku vytvářeného tímto způsobem, složeného z nosné vrstvy 1, distanční vrstvy 2 a z krycí fólie vystřižením nebo vyražením.

25

Šest výrobních stupňů (A až F) analytického zkušebního prvku, který může být vyroben podle výhodného provedení vynálezu, je znázorněno schematicky na obr. 2. Ve stupni A je připravena nosná vrstva 1, ve které je vyražen vrub 9, která je konečným analytickým zkušebním prvkem, může sloužit kromě jiného jako orientační pomůcka pro aplikaci vzorku a k usnadnění nasátí vzorku do kapiláry (stupeň B). Stupeň C ukazuje nosnou vrstvu 1, na které je po vyražení vrubu 9 distanční vrstva 2 nanášená ve formě oboustranně lepidivé pásky. V tomto případě je už vyříznut obrys aktivní (kapilární) zóny 8 přes distanční vrstvu 2, nežádoucí zbytky distanční vrstvy 2 byly odloupnuty a krycí fólie (mezivrstva) byla z lepicí pásky odloupnuta. Potom (stupeň D) se nalaminuje analytický detekční film 10 na příslušnou stranu distanční vrstvy 2 zbývající na nosné vrstvě 1. Zbývající, dříve nepokrytá oblast kapilárně aktivní zóny 8 je překryta krycí fólií a výsledkem je kontinuální kapilárně aktivní zóna, která zahrnuje krycí fólii 11 i detekční film 10 (stupeň E). Z výrobních důvodů se zbývající vystavené plochy lepicí pásky následně opatří ochrannou fólií 12, která je určena k ochraně před nechtěným slepením analytických zkušebních prvků, vyrobených podle vynálezu (stupeň F). Mezi ochrannou fólií 12 a detekčním filmem 10 zůstává tedy při tomto procesu malá mezera obvykle několika milimetrů, která dovoluje únik vzduchu z kapilárně aktivní zóny, když je plněna tekutým vzorkem. Z téhož důvodu není kapilární aktivní zóna 8 úplně zakryta krycí fólií 11 a detekční film 10 není úplně zakryt na straně přiléhající k ochranné fólii 12.

45

Analytický zkušební prvek z obr. 2, vyrobený podle vynálezu, je opět znázorněn na obr. 3 v rozloženém stavu. Distanční vrstva 2, která definuje obrys a výšku (odpovídající tloušťce distanční vrstvy) kapilárně aktivního kanálku, je umístěna na nosné vrstvě 1, v níž byl vyražen vrub 9. Je na ní umístěna krycí fólie 11, detekční film 10 i ochranná fólie 12. Krycí fólie 11 a detekční film 10 jsou tak těsně u sebe, že kapilárně aktivní zóna vyčnívá z volného okraje krycí fólie 11 ležící nad vrubem 9 až k protilehlému volnému okraji detekčního filmu 10. Vystřižená plocha v distanční vrstvě 2 je poněkud delší než krycí fólie 11 a detekční film 10 dohromady, takže obvykle zůstává nepokrytá mezera široká několika milimetrů, kterou může unikat vzduch když je

50

kapilárně aktivní zóna plněna tekutým vzorkem. Tato mezera zůstává také nepokryta ochrannou fólií 12, takže její funkce zůstává zaručena.

Vynález blíže objasňuje, nijak však neomezuje následující příklady praktického provedení.

5

Příklad 1

Výroba analytického zkušebního prvku způsobem podle vynálezu. Oboustranně lepicí páska o tloušťce 100 μm se nalepí jako distanční vrstva 2 na 350 μm tlustou fólii polyethylentereftalátu (Melinex. ICI, Frankfurt am Main, Německo). Nosná vrstva 1 má délku 25 mm a šířku 5 mm. Centrální výstupek tvaru vrubu o šířce 1 mm a délce 2 mm je umístěn na krátkých stranách nosné vrstvy 1, jak je popsáno také v německé přihlášce vynálezu číslo P 197 53 850.9. Obrys pro vyřiznutí 2 mm široký a 16 mm dlouhý, který definuje geometrii kapilárního kanálku, je veden skrz adhezivní pásek laminovaný na nosné vrstvě 1 pomocí vhodně tvarovaného řezného nástroje, aniž je nosná vrstva prostřižena tak hluboko, že by tím byla narušena její tuhost a stabilita. Délka výřezu se volí tak, že je mírně větší než požadovaná délka kapilárně aktivního kanálku, který je vymezen jeho krytem k zaručení ventilace kanálku během plnění tekutým vzorkem. Nežádoucí části lepicí pásky se z nosné vrstvy 1 odloupnou okamžitě po zavedení obrysu. Detekční film o délce 3 mm a šířce 5 mm se nalepí na jednu stranu zbývající lepicí pásky, což zaručuje ventilaci ve vzdálenosti 1 mm od konce výřezu. Filmu je použito jako detekčního filmu, jak je to známo z německé přihlášky vynálezu číslo P 196 29 656.0. Detekční film je specifický pro detekci glukózy. Krycí film o délce 12 mm a šířce 5 mm se nalepí na oblast lepicí pásky, která je stále otevřená mezi vrubovými výřezy a detekčním filmem, takže krycí vrstva a detekční film se překrývají. Krycí fólie 11 sestává ze 150 μm tlusté polyethylentereftalátové fólie opatřené na jedné straně lepidlem, kterým je přilepena 5 μm silná polyethylentereftalátová fólie (obě Hostaphan, Hoechst Frankfurt am Main, Německo), pokrytá 30 nm tlustou vrstvou oxidovaného hliníku, nanesenou na straně přivrácené ke kapilárnímu kanálku. V tomto případě přechází tenčí fólie přibližně 500 μm za tlustší fólií na straně přivrácené k detekčnímu filmu. Při nanášení krycí vrstvy na lepicí pásku, je třeba dát pozor na to, aby vyčnívající konec tenčí fólie ležel mezi detekčním prvkem a tlustší fólií krycí fólie 11. K pokrytí ploch lepicí pásky, které jsou stále obnaženy, se přilepí 9,75 μm silná fólie Melinex, aniž se však zakryjí funkční plochy.

Tímto způsobem získaný zkušební prvek má kapilární kanálek o délce 15 mm, šířce 2 mm a výšce 0,1 mm. Kanálek může pojmout 3 μl tekutého vzorku. Vzorkem se smočí plocha 3 mm x 2 mm detekčního filmu.

35

Průmyslová využitelnost

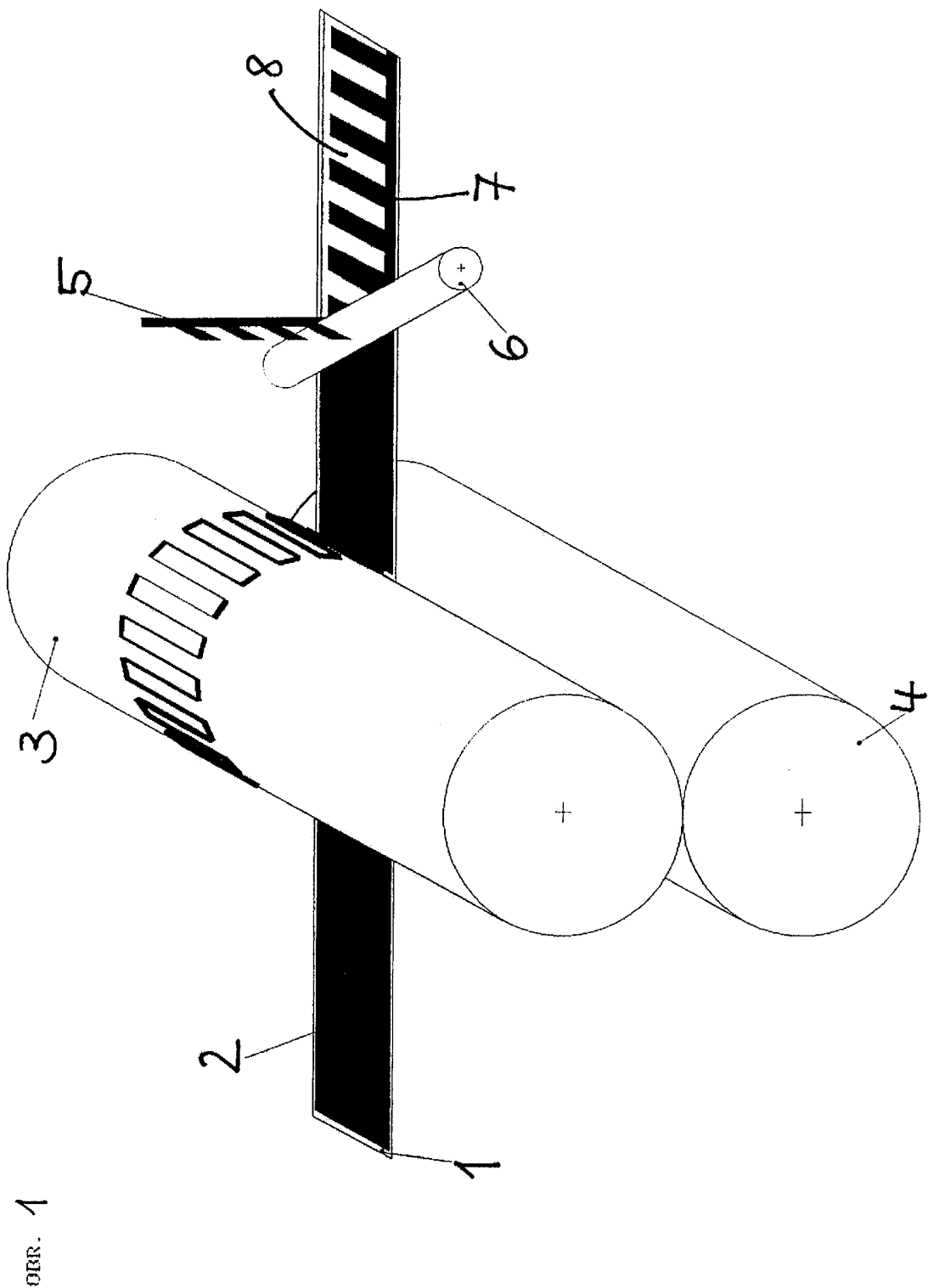
Výroba detekčního zařízení pro kvalitativní i kvantitativní analýzu vzorků tělních tekutin, jako krve, slin, potu a moče. Detekční zařízení sestává z pásek, na které se zkoušené vzorky nanášejí a jsou kapilárními silami jímány.

45

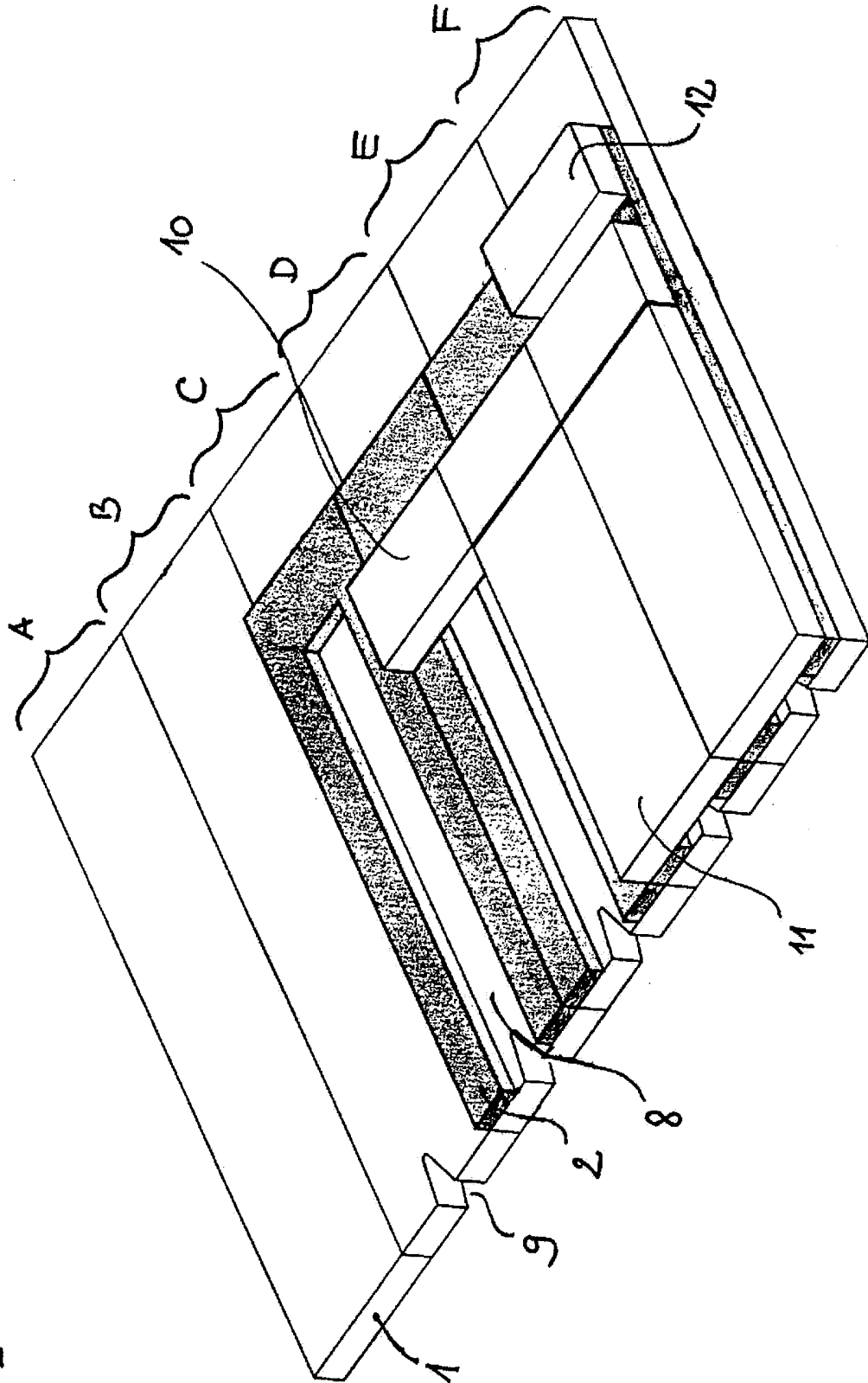
PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Způsob výroby analytických zařízení s kapilárně aktivní zónou (8), **vyznačující se tím**, že
- (a) se připraví nosná zóna (1),
 - (b) distanční vrstva (2) se nalaminuje na nosnou vrstvu (1),
 - (c) obrys určující tvar kapilárně aktivní zóny (8), se vyrazí, vystřihne nebo prostřihne přes
 - 10 distanční vrstvu (2) nalaminovanou na nosnou vrstvu (1),
 - (d) z nosné vrstvy (1) se odstraní části distanční vrstvy (2), které jsou nepotřebné pro vytlačování kapilárně aktivní zóny (8) a
 - (e) na distanční vrstvu (2) se přiloží krycí vrstva pro vytvoření kapilárně aktivní zóny (8).
- 15 2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že se jako distanční vrstva (2) použije oboustranně lepivá lepicí páska.
3. Způsob podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že krycí vrstva je složena z jedné nebo několika částí.
- 20 4. Způsob podle nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že krycí vrstva sestává alespoň částečně z analytického detekčního filmu (10).
5. Způsob podle nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že analytickým zařízením je
- 25 analytický zkušební prvek.
6. Způsob podle nároků 1 až 5, **vyznačující se tím**, že se distanční vrstva (2) nalaminuje na nosnou vrstvu (1) bezprostředně před vyražením, vyřezáním nebo prostřihnutím obrysu kapilárně aktivní zóny (8).
- 30 7. Způsob podle nároků 1 až 6, **vyznačující se tím**, že části distanční vrstvy (2), které nejsou určeny pro vytvoření kapilárně aktivní zóny (8), se odstraní okamžitě po vyražení, vyřezání nebo prostřihnutí obrysu kapilárně aktivní zóny (8).
- 35 8. Způsob podle nároků 1 až 7, **vyznačující se tím**, že nosná vrstva (1), distanční vrstva (2) a krycí vrstva mají tvar pásku.
9. Způsob podle nároku 8, **vyznačující se tím**, že obrys se vytvoří kontinuálním vyřezáním rotačním řezným nástrojem.
- 40 10. Způsob podle nároku 9, **vyznačující se tím**, že se jako rotační řezný nástroj použije řezný buben (3) a přitlačný válec (4).
11. Způsob podle nároků 8 až 10, **vyznačující se tím**, že se analytické zařízení
- 45 oddělí vyřezáním nebo vyražením po nanesení krycí vrstvy.

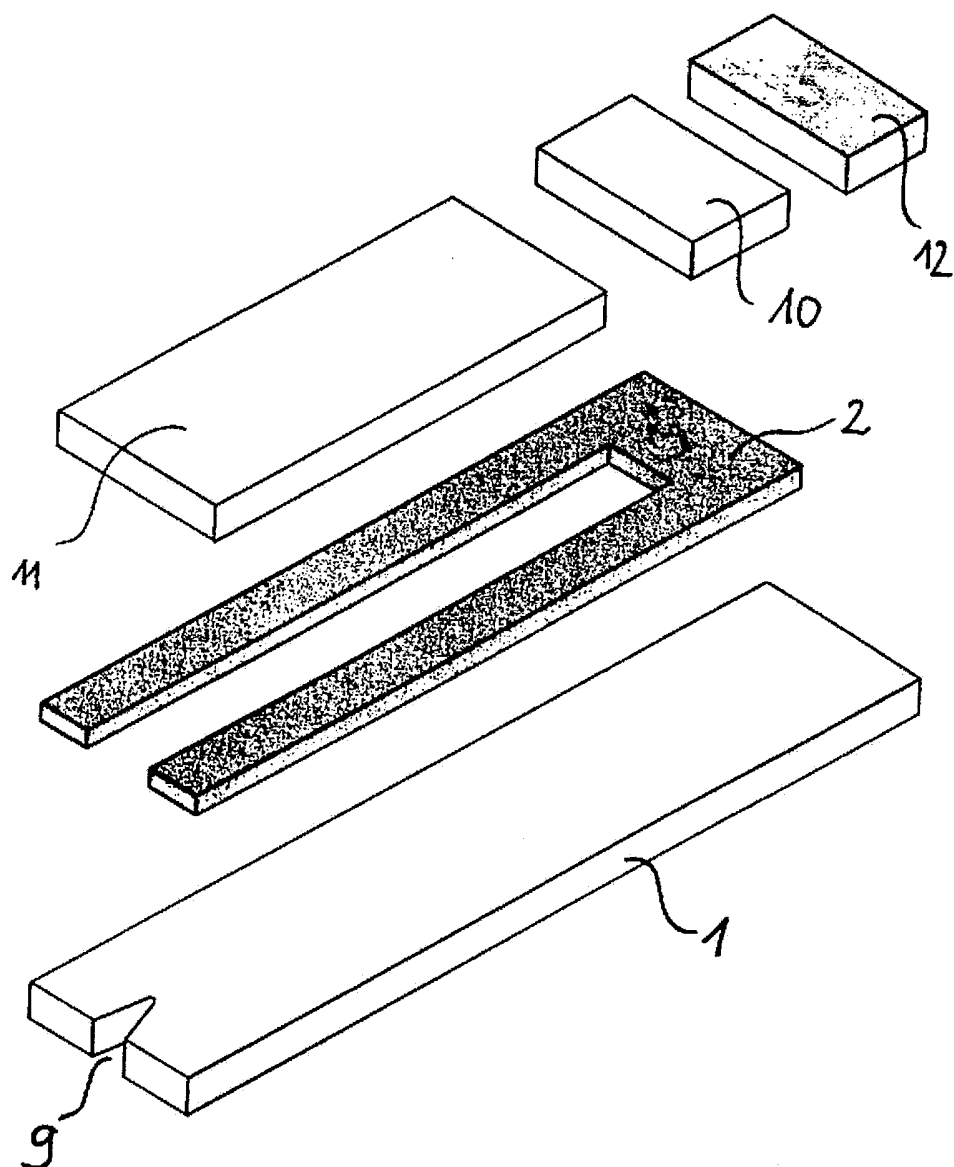
3 výkresy



OBJ. 2



OBR. 3



Konec dokumentu
