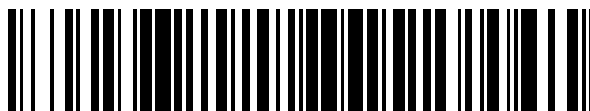


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 990**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/543** (2006.01)

**G01N 33/76** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 47/36** (2006.01)

**A61K 47/38** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.10.2004 E 04796239 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2013 EP 1695094**

54 Título: **Películas desintegrables para dispositivos de diagnóstico**

30 Prioridad:

**24.10.2003 US 513547 P**

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

**28.10.2013**

73 Titular/es:

**ADHESIVES RESEARCH, INC. (100.0%)  
400 SEAKS RUN ROAD  
GLEN ROCK, PA 17327, US**

72 Inventor/es:

**MEATHREL, WILLIAM;  
MEYER, NATHAN A.;  
BARNHART, SCOTT D.;  
FULL, ANDREW P.;  
MORITZ, CATHY M.;  
NEWSON, SUSAN R. y  
ROBERTSON, MARY**

74 Agente/Representante:

**DURÁN MOYA, Carlos**

**ES 2 426 990 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**

Películas desintegrables para dispositivos de diagnóstico

5 **SECTOR DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a películas desintegrables, dispositivos de diagnóstico que contienen dichas películas, y métodos para su utilización. Más en particular, la presente invención da a conocer en una realización películas solubles en agua que contienen reactivos solubles o dispersos para utilizar en dispositivos de ensayo de diagnóstico.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

15 Los dispositivos de diagnóstico in vitro son ampliamente utilizados. Los dispositivos para ensayos de diagnóstico útiles dependen de reacciones de afinidad biospecíficas para la detección, aislamiento, y/o separación de células, proteínas, bacterias, virus, secuencias de ácidos nucleicos, y otros materiales o compuestos de interés diferentes. Muchos ensayos médicos de diagnóstico requieren la detección, aislamiento, y/o medición de compuestos específicos presentes en los fluidos biológicos tales como sangre, saliva, y orina.

20 Los ensayos de diagnóstico se pueden llevar a cabo utilizando diferentes dispositivos, por ejemplo, dispositivos electrónicos, biosensores, dispositivos de flujo lateral, tiras de ensayo, y tarjetas de ensayo, entre otros. A menudo, los materiales necesarios para llevar a cabo un ensayo se proporcionan en forma de kit de ensayo, que puede incluir un dispositivo de ensayo particular. Algunos dispositivos de ensayo incluyen el reactivo o los reactivos necesarios para llevar a cabo un ensayo particular. Para otros dispositivos de ensayo, el reactivo o los reactivos se obtienen por separado y se utilizan en conjunto con el dispositivo de ensayo.

Se incluyen entre las sustancias que se pueden detectar, medir, y/o aislar utilizando un dispositivo de diagnóstico in vitro, por ejemplo, glucosa, colesterol, proteínas, por ejemplo, varias enzimas, tales como amilasa y creatina quinasa; sustancias de abuso, por ejemplo, drogas reguladas por la ley con respecto a la posesión y utilización, tales como metanfetaminas; células, bacterias, virus, y secuencias de ácidos nucleicos; entre otras. Por ejemplo, los ensayos de embarazo se pueden llevar a cabo utilizando tiras de ensayo para detectar gonadotropina coriónica humana (hCG). Dicho ensayo se describe en las Patentes de EE.UU. Núm. 6.403.298 y 4.496.654. Además, las personas diabéticas y los profesionales de la salud pública utilizan tiras de ensayo para medir el nivel de glucosa en sangre. La Patente de EE.UU. Núm. 6.270.637 describe una tira de ensayo de glucosa en sangre biosensor electroquímico. Los ensayos de diagnóstico, tal como se describen en la Patente de EE.UU. Núm. 5.846.751, se utilizan para detectar la bacteria *Helicobacter pylori* en el estómago de seres humanos para diagnosticar trastornos gástricos y enfermedad de úlcera duodenal. La Patente de EE.UU. Núm. 6.645.731 describe el aislamiento de células de cáncer a partir de una matriz bioquímica.

40 Los dispositivos de ensayo de flujo lateral son utilizados de forma común. Habitualmente, un dispositivos de flujo lateral incluye una tira de ensayo, sobre la que está presente uno o más reactivos. Para utilizar un dispositivos de ensayo de flujo lateral, se deposita una muestra de fluido sobre la tira y migra por la acción de capilaridad a lo largo de la tira en la que tienen lugar las reacciones químicas in situ en dependencia de la presencia o ausencia del analito. A menudo, como mínimo, se incluye un reactivo que manifiesta una señal detectable, por ejemplo, un cambio de color, en presencia de una cantidad mínima del analito de interés.

Para fabricar tiras de ensayo, se colocan soluciones acuosas que contienen un reactivo, por ejemplo, enzimas o anticuerpos, sobre una capa de soporte, que es un material sólido, tal como un soporte de membrana, un sensor electroquímico, celulosa o papel. Los reactivos se seleccionan como necesarios o útiles en la detección del analito en cuestión. Habitualmente, el reactivo se coloca sobre la membrana por pulverización, recubrimiento, o arrastre ("stripping") y, a continuación se seca.

Otros dispositivos de diagnóstico requieren la utilización de varios reactivos acuosos. Habitualmente, los reactivos se aplican mediante pipeteo directamente a la muestra que se va a ensayar.

Los reactivos pueden ser caros. Por lo tanto, no es deseable desperdiciar los reactivos. Las técnicas de preparación convencionales para las tiras de ensayo, tales como pulverización, recubrimiento, o arrastre, pueden dar como resultado pérdidas del reactivo. Además, es difícil controlar la cantidad de reactivo sobre la tira de ensayo utilizando técnicas convencionales. También, los reactivos acuosos pueden ser incómodos de manipular. Algunos reactivos son inestables en forma acuosa y pueden necesitar almacenamiento especializado, tal como refrigeración. El documento EP 0653635 da a conocer una lámina que comprende un material de base insoluble en agua y una capa que consiste en una sustancia fisiológicamente activa fijada en una resina soluble en agua sobre la superficie del material de base.

65 Las partículas magnéticas que han sido funcionalizadas con fracciones de reactivos químicos específicos son conocidas para utilizar como reactivos en inmunoensayos. En estos ensayos, los complejos bioquímicos se separan

5 y aíslan sobre la base de sus propiedades magnéticas. La Patente de EE.UU. Núm. 6.120.856 se refiere a la utilización de fluidos ferrosos en técnicas de diagnóstico que incluyen inmunoensayos, separación celular, ensayos de toxicidad, ensayos de alimentos, y ensayos medioambientales. La Patente de EE.UU. Núm. 6.672.458 se refiere a las utilizations de partículas paramagnéticas funcionalizadas para la separación y aislamiento de ácidos nucleicos (ADN y ARN) a partir de técnicas de amplificación. Seguido de la amplificación, las células son lisadas y secuencias específicas de ácidos nucleicos forman complejos con las partículas paramagnéticas funcionalizadas. Las partículas paramagnéticas con el ácido nucleico unido se separan de la solución restante utilizando las propiedades magnéticas del complejo.

10 Sin embargo, ha sido difícil controlar la concentración de las partículas magnéticas debido a los efectos estáticos en los recipientes de vidrio y plástico utilizados en las técnicas de diagnóstico convencionales. Se conoce que los recipientes de plástico hechos de poliestireno y propileno retienen una carga estática. La carga estática en los tubos de ensayo y otros componentes causan problemas en la dispensación de cantidades exactas de partículas debido a la atracción de las partículas a las superficies de plástico y vidrio.

15 Por consiguiente, es deseable disponer de composiciones de reactivos y dispositivos de diagnóstico que minimicen o eliminen los problemas mencionados anteriormente.

#### 20 BREVES CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCIÓN

25 La presente invención, en su sentido más amplio, se define en las reivindicaciones adjuntas. La presente invención da a conocer composiciones de reactivos de películas desintegrables preparadas con una combinación de componentes que producen películas de suficiente resistencia de película y perfiles de desintegración rápida para utilizar en ensayos de diagnóstico. Una película desintegrable, según la presente invención, contiene una mezcla de polímeros solubles en agua de alto peso molecular y de bajo peso molecular. La película también contiene uno o más reactivos dirigidos a reaccionar con un analito de interés u otros reactivos, de manera que la película se puede utilizar en un ensayo de diagnóstico particular. Opcionalmente, las películas contienen, además, un componente de almidón, un componente de glucosa, un plastificante y/o un humectante. También opcionalmente, la película puede incluir una carga, que es una fase o partícula dispersa en la película para modificar el perfil de desintegración de la película.

35 El término "analito" se refiere a la molécula u otra sustancia en la muestra que se va a detectar. Por ejemplo, tal como se utiliza en el presente documento, un analito puede ser un ligando, que es mono o poliepitópico, antigénico o hapténico; puede ser un compuesto único, tal como gonadotropina coriónica, glucosa, antígeno específico de la próstata, o una serie de compuestos que comparten, como mínimo, un sitio epitópico común; puede ser un sitio epitópico viral, bacteriano, o de otro patógeno; también puede ser un receptor o un anticuerpo, o cualquier otra sustancia, compuesto o material químico o biológico que se sospecha que está presente en una muestra de interés, incluyendo, sin constituir limitación, una sustancia tóxica, tales como un contaminante, o un agente de guerra.

40 Se incluyen entre los ejemplos de "reactivos", sin constituir limitación, anticuerpos específicos o receptores específicos, varias partículas de óxido de hierro, partículas magnéticas, ferromagnéticas o paramagnéticas, y cualquier sustancia que por sí misma o en combinación con otros factores de lugar a una señal o respuesta detectables cuando se une con un analito de interés, por ejemplo, un patógeno (por ejemplo, una bacteria, virus, u hongo); una proteína (por ejemplo, un factor de crecimiento, una linfoquina, una toxina, o una hormona); una superficie celular (por ejemplo, una molécula de adherencia celular, una laminina, una fibronectina, una integrina, o una lectina); varios fármacos; metabolitos; pesticidas; o toxinas.

50 Una película, según la presente invención, está en forma de monocapa. La monocapa se puede cortar en cualquier tamaño y forma deseados para utilizar en aplicaciones de ensayos de diagnóstico. En detalle, la presente invención da a conocer una película desintegrable para un dispositivo de diagnóstico, dicha película comprende un primer polímero soluble en agua que tiene un peso molecular de 30.000 daltons; un segundo polímero soluble en agua que tiene un peso molecular de 90.000 ó 140.000 daltons; como mínimo, un reactivo dirigido a reaccionar con un analito de interés en una muestra de fluido acuoso que contiene el analito; y en la que la película está en forma de monocapa de un grosor suficiente para desintegrarse tras el contacto con el fluido acuoso aplicado al dispositivo de diagnóstico para liberar el reactivo.

55 La presente invención también da a conocer un dispositivo de ensayo de diagnóstico, que comprende una película, según la presente invención, y métodos para su utilización para detectar la presencia de un analito de interés.

60 Estas y otras ventajas y características de la presente invención serán comprendidas más fácilmente a partir de la descripción detallada siguiente.

#### DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

65 Lo anterior y otras ventajas y características de la presente invención serán más evidentes a partir de la descripción detallada de ejemplos de realizaciones que se presentan a continuación en referencia a los dibujos anexos en los

que:

La figura 1 muestra un dispositivo de ensayo de diagnóstico, según un ejemplo de realización de la presente invención; y

5 La figura 2 es un diagrama de bloque de un dispositivo de ensayo, según otro ejemplo de realización de la presente invención.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

10 A continuación se hará referencia en detalle a las realizaciones actualmente preferentes de la presente invención, que, junto con los siguientes ejemplos, sirven para explicar los principios de la presente invención. Estas realizaciones se describen con suficiente detalle para permitir a los expertos en la materia poner en práctica la presente invención.

15 La presente invención incorpora reactivos de ensayo y otros componentes químicos en una película desintegrable. La película se puede troquelar y colocar en un dispositivo de ensayo o tira de ensayo en varias técnicas de diagnóstico, incluyendo, sin constituir limitación, inmunoensayos, separaciones celulares, ensayos de toxicidad, ensayos de alimentos, análisis medioambientales y kits de ensayos de respuesta a emergencias. Se puede utilizar una película desintegrable con un solo reactivo o con múltiples reactivos. De forma alternativa, también se pueden utilizar múltiples películas desintegrables con un solo reactivo o con múltiples reactivos en un dispositivo de ensayo de diagnóstico.

20 Las películas desintegrables, según la presente invención, están comprendidas por una mezcla de polímeros solubles en agua de alto peso molecular y de bajo peso molecular. La película también comprende uno o más reactivos, de manera que la película se puede utilizar en un ensayo de diagnóstico particular. Opcionalmente, las películas pueden comprender además un componente de almidón, un componente de glucosa, un plastificante y/o humectante; y/u otros excipientes en cantidades adecuadas tal como se describe a continuación, y que se pueden determinar por un experto en la materia de conformidad con las orientaciones proporcionadas por los ejemplos y enseñanzas de la presente invención. Preferentemente, las películas tendrán un grosor en el intervalo de 0,01016 mm (0,4 mil) a 0,254 mm (10 mil) y más preferentemente en el intervalo de 0,01016 mm (0,4 mil) a 0,0508 mm (2 mil) aunque otros grosores diferentes son adecuados si se desea para aplicaciones particulares tal como se describen en más detalle a continuación.

35 Cada película se puede caracterizar por su resistencia de la película y su perfil de desintegración (la velocidad a la que la película se desintegrará en un medio acuoso tal como saliva). En películas disolubles conocidas, se han utilizado tensioactivos para que influyan en la velocidad de desintegración y disminuya el tiempo requerido para la completa desintegración de la película. La presente invención da a conocer composiciones de películas desintegrables que se desintegran rápidamente tras la aplicación de un fluido de desintegración, tales como, sin constituir limitación, sangre, saliva, orina, y otros fluidos biológicos y medioambientales acuosos, y que, a su vez, tienen una resistencia de la película suficiente sin que se requiera la utilización de ningún tensioactivo. Mientras que un tensioactivo es opcional en ciertas realizaciones de la presente invención, tal como se describe a continuación, otras realizaciones están libres de tensioactivos o sustancialmente libres de tensioactivos. El término "esencialmente libre de tensioactivos" se refiere a cantidades trazas o niveles mayores de tensioactivos que son suficientemente bajas de manera que no aumentan sustancialmente la velocidad de desintegración de la composición de las películas después del contacto con un fluido de desintegración.

40 Una película desintegrable que contiene uno o más reactivos puede mejorar la estabilidad de los reactivos. Además, los reactivos se pueden utilizar de forma más eficaz y eficiente, dado que la película se puede colocar en un área particular en el dispositivo de ensayo y se puede manipular fácilmente en comparación con una solución acuosa. Además, disponer los reactivos en forma de película promueve la utilización eficiente y minimiza el desperdicio de los reactivos dado que una película se puede dividir en segmentos individuales que tienen una cantidad deseada de reactivo y, de esta manera, se puede eliminar la necesidad del pulverizado, recubrimiento o arrastre, si se desea.

55 Los polímeros solubles en agua de alto peso molecular y de bajo peso molecular de las películas desintegrables, según la presente invención, pueden incluir hidroxipropilmetil celulosa, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, polivinilpirrolidona, carboximetil celulosa, carboximetil celulosa sódica, metil celulosa, alcohol polivinílico alginato de sodio, polietilenglicol, goma de xantano, goma de tragacanto, goma de guar, goma de acacia, goma arábica, carragenano, ácido poliacrílico, copolímero de metilmetacrilato, copolímeros de carboxivinilo, solubles en agua y varias mezclas de los mismos y otros polímeros solubles en agua conocidos, derivados de celulosa, y/o gomas, entre otros.

60 Se ha encontrado que las propiedades particularmente beneficiosas de resistencia de la película y perfil de desintegración se obtienen cuando los componentes solubles en agua incluyen una combinación de polímeros de bajo peso molecular (es decir, aquellos con 30.000 daltons) y polímeros de alto peso molecular (aquellos con 90.000 ó 140.000 daltons). Por ejemplo, es adecuada una combinación de hidroxipropil celulosa (es decir, Klucel™, grado JF, Hercules Inc., División Aqualon) o hidroxipropil metilcelulosa (es decir, Methocel™, grado E50, de Dow

Chemical) con hidroxipropilmetil celulosa (es decir, Methocel<sup>TM</sup>, grado E5). Estos polímeros derivados de celulosa solubles en agua tienen pesos moleculares de 140.000; 90.000; 30.000; daltons, respectivamente.

5 Otros polímeros solubles en agua descritos son polivinilpirrolidona (PVP), tal como Plasdone<sup>TM</sup> K-29/32 de ISP Corp., que tiene un peso molecular aproximadamente de 58.000 daltons, y copolímero de polietilenglicol y alcohol polivinílico, tales como Kollicoat<sup>TM</sup> IR de BASF Pharma, que tiene un peso molecular aproximadamente de 49.000 daltons; y un polímero acrílico, sal sódica, tal como Acrysol<sup>TM</sup> de Rohm y Haas, que está disponible en varios grados que tienen pesos moleculares diferentes. Además, un polímero soluble en agua puede servir a la función de un componente opcional adicional.

10 Los pesos moleculares de los polímeros solubles en agua se pueden determinar tal como se describe en Keary, "Characterization of METHOCEL cellulose ethers by aqueous SEC with multiple detectors", Carbohydrate Polymers vol. 45, pp. 293-303 (2001).

15 Otros polímeros diferentes pueden ser seleccionados por un experto en la materia dadas las enseñanzas del presente documento, siempre y cuando el polímero sea soluble en agua, e incluye una cantidad suficiente de un componente de alto peso molecular de 90.000 ó 140.000 daltons para conferir adecuada resistencia de la película, y una cantidad suficiente de un componente de bajo peso molecular de 30.000 daltons para facilitar las propiedades de la película deseadas del perfil de desintegración rápida. Se pueden utilizar varias concentraciones de cada polímero. Dichas concentraciones estarán típicamente en el intervalo aproximadamente del 2% aproximadamente al 35% basado en el peso total de la película seca. En una realización, la concentración para el polímero de alto peso molecular es aproximadamente del 2% al 10% y la concentración del polímero de bajo peso molecular es aproximadamente del 2% al 10% de la película seca.

25 El componente de bajo peso molecular también puede servir a la función de un componente opcional adicional. Por ejemplo, el componente de bajo peso molecular también puede servir como reactivo, componente de glucosa, plastificante, almidón, espesante, tampón, estabilizante, y/o aditivo, y puede incluir cualquiera de los compuestos específicos que se enumeran a continuación u otros compuestos adecuados, que son solubles en agua y tienen un peso molecular de 30.000 daltons. El componente de bajo peso molecular sirve para promover la desintegración rápida, pero está presente en una cantidad de manera que la resistencia de la película es adecuada para el procesamiento y la dispensación. Se pueden utilizar varias concentraciones del componente de bajo peso molecular. Dichas concentraciones estarán típicamente en el intervalo aproximadamente del 2% aproximadamente al 80% o más basado en el peso total de la película seca.

35 Las cantidades de los componentes de alto y bajo peso molecular se pueden ajustar para lograr un perfil de desintegración deseado para la película. Cuando se desea una desintegración más lenta, la concentración del componente de alto peso molecular se puede aumentar en relación con la concentración del componente de bajo peso molecular. Cuando se desea una desintegración más rápida, la concentración del componente de bajo peso molecular se puede aumentar en relación con el componente de alto peso molecular. Además, el grosor de la película se puede ajustar para lograr un perfil de desintegración deseado. Para aumentar el tiempo de desintegración, se aumenta el grosor de la película. Se debe mantener una adecuada resistencia de la película para permitir el procesado de la película.

45 Además de un tiempo de desintegración deseado, las películas según la presente invención tienen adecuada resistencia para el procesado, envasado y la administración sin fallos físicos (por ejemplo, roturas, fracturas, u otros) durante el procesado y manipulación normal antes del envasado y utilización en un dispositivo de diagnóstico o aplicación de ensayo deseados. La resistencia de la película, específicamente, la flexibilidad, elasticidad y resistencia a la rotura de la película, se pueden determinar utilizando el Analizador de Textura TA.XT2i de Texture Technologies Corp. y el método de ensayo ASTM D3763 "Propiedades de perforación a alta velocidad de plásticos utilizando sensores de desplazamiento y carga". Estas propiedades de resistencia y rápida desintegración de la película son el resultado de la combinación única de los componentes descritos en el presente documento. Desintegración "rápida" se refiere a que el reactivo que se libera de la matriz de la película en menos de un minuto. Los tiempos de desintegración se pueden determinar utilizando el ensayo que se da a conocer en (USP) 24, Desintegración <701>. Véase Farmacopea de los Estados Unidos, Ed. 24, Cáp. 701, p.941 (2000).

55 El componente de glucosa opcional de las películas delgadas, según la presente invención, se puede añadir para promover la desintegración de la película tras el contacto con un fluido de desintegración. Preferentemente, el componente de glucosa comprende un polímero soluble en agua o mezcla de polímeros que tienen unidades de D-glucosa. Los equivalentes de dextrosa (DE) del componente de glucosa está preferentemente en el intervalo aproximadamente de 10 aproximadamente a 25, o aproximadamente de 15 a aproximadamente 20, aunque también se pueden utilizar otros intervalos de DE diferentes. El componente de glucosa se puede preparar, por ejemplo, mediante la hidrólisis parcial del almidón para producir mezclas de polímeros de D-glucosa. Se incluyen entre los componentes de glucosa adecuados disponibles comercialmente, por ejemplo, maltodextrina, sólidos de jarabe de maíz, sacarosa, y dextrosa. La maltodextrina que tiene un DE aproximadamente de 16,5 a 19,5, tal como la disponible comercialmente de Grain Processing Corp. (GPC) bajo el nombre comercial "Maltrin M180," es particularmente adecuada, aunque se pueden utilizar otros polímeros que contienen glucosa diferentes y mezclas,

incluyendo, por ejemplo, otros grados de "Maltrin," "Lycatab DH" (Roquette Freres), y "Star-Dri" (A.E. Staley). Las concentraciones adecuadas como un porcentaje en peso de la composición de la película seca estarán típicamente en el intervalo aproximadamente del 2% al 20%, o aproximadamente del 3% aproximadamente al 15%, aunque también se pueden utilizar otras concentraciones dependiendo de la selección de otros componentes y las propiedades de la película deseadas.

El componente de almidón opcional de las películas, según la presente invención, se puede añadir para promover la desintegración de la película tras el contacto con un fluido de desintegración. El componente de almidón también puede servir para aumentar el contenido de sólidos de la película y añadir masa. Preferentemente, el componente de almidón es una composición de polisacárido soluble en agua que contiene amilosa y/o amilopectina. Dichas composiciones se pueden preparar, por ejemplo, mediante la modificación de almidones naturales, tales como almidón de maíz, trigo, arroz, patata, o tapioca, para proporcionar almidones instantáneos solubles en agua fría. Se pueden utilizar diversas composiciones de polisacáridos solubles en agua de amilosa y/o amilopectina. Típicamente, esto se puede llevar a cabo mediante el calentamiento de un almidón natural con vapor para modificar el producto de almidón natural, de modo que sea soluble en agua fría.

El almidón instantáneo disponible comercialmente de GPC, Muscatine IA, como "Instant Pure Cote B792," (IPC B792) es un componente de almidón a modo de ejemplo para los propósitos de la presente invención. Se incluyen entre otros almidones instantáneos disponibles comercialmente adecuados "Polartex Instant 12640", disponible de Cargill, Inc., y también se pueden utilizar otros diferentes. El componente de almidón tendrá típicamente una proporción de amilosa con respecto a amilopectina en el intervalo, por ejemplo, aproximadamente de 0 a aproximadamente 2,5. El almidón se puede incorporar en la composición de película húmeda en cualquier cantidad adecuada, incluyendo, sin constituir limitación, aproximadamente de 2% a 50%, o aproximadamente de 3% a aproximadamente 35% en peso basado en la película seca.

Las composiciones de películas desintegrables, según la presente invención, también pueden contener opcionalmente un plastificante o humectante, por ejemplo, polialcoholes, ésteres de sorbitán, y ésteres de ácido cítrico, para aumentar la flexibilidad de las películas. Los plastificantes pueden ser añadidos directamente a la formulación durante la fabricación. Se incluyen entre los compuestos adecuados polietilenglicol (PEG), tales como Lutrol™ E 400, de BASF Pharma; óxido de polietileno, tales como Polyox™ de Dow; polioxámeros, tales como Lutrol™ F de BASF Pharma, alcohol polivinílico, polivinil metil éter, tales como LUTANO™ de BASF, o mezclas de dichos polímeros; triacetina, glicerina; manitol; xilitol, y otros polialcoholes diferentes y otros compuestos que tienen propiedades plastificantes y/o humectantes se pueden emplear satisfactoriamente. Sorbitol y PEG 400 son particularmente adecuados; aunque los compuestos que tienen un peso molecular más alto (por ejemplo, Polyox™ N80) que el PEG 400 pueden ser deseables para ciertas aplicaciones, ya que por lo general son menos volátiles que el sorbitol y el PEG 400. El plastificante y/o humectante opcional puede estar presente en cualquier intervalo adecuado, incluyendo, por ejemplo, aproximadamente de 3% a 30%, de 10% a 20%, o de 15% a 18% en peso de la película seca.

Además, se pueden añadir espesantes, tampones, estabilizantes, aditivos y/u otros componentes a las formulaciones de películas, según la presente invención, para obtener una película que tiene las propiedades deseadas. Por ejemplo, en algunos casos puede ser deseable utilizar películas que muestran tiempos de desintegración diferentes o se desintegran bajo diferentes condiciones, tales como a un pH elevado. En dicho caso, se puede añadir un componente adicional a la composición de la película. Por ejemplo, para configurar la película para que se desintegre basado en parte en el nivel de pH del fluido de solubilización, se puede añadir un espesante, tal como Carbopol™ 940 de Noveon, Inc.

Tal como se mencionó anteriormente, según un ejemplo de realización, las películas según la presente invención pueden contener una carga, que es una fase o partícula dispersa. La carga puede añadir masa a la película; aumenta la parte de sólidos de la película, que puede ayudar en el recubrimiento; y/o puede provocar que las películas se desintegren más rápido tras el contacto con el fluido de desintegración, es decir, la muestra biológica u otro material acuoso que se sospecha que contiene un analito de interés.

La carga puede ser un reactivo o un componente adicional opcional. La carga puede ser un componente no activo opcional. Entre los ejemplos de dichos componentes se incluyen óxido de titanio y celulosa microcristalina, que está disponible con el nombre comercial Avicel™, entre otros. También se puede utilizar aire u otros gases como carga, según la presente invención. Cuando se emplea aire como carga, se puede incluir en la formulación de la película un tensioactivo (por ejemplo, lauril sulfato de sodio (SLS), disponible con el nombre Stepanol™, Polysorbate™ 80, o Pluracare™ F87 Pril NF). El tensioactivo en sí no sirve para aumentar de manera significativa la velocidad de desintegración de las películas. En su lugar, el tensioactivo ayuda en el procesado y formación de la película. Específicamente, el tensioactivo estabiliza las burbujas gaseosas como fase dispersa en una solución para permitir que la solución sea procesada, tal como se describe en más detalle a continuación, para formar la película que contiene el gas o aire como relleno de fase dispersa.

Los componentes particulares para una película se pueden seleccionar si se desea tal como son compatibles con un esquema de ensayo particular. Por ejemplo, típicamente se puede omitir el componente de glucosa opcional de una

película que será empleada en un dispositivo de ensayo de glucosa en sangre.

5 Las composiciones de las películas, según la presente invención, se pueden preparar mediante varios métodos, incluyendo, sin constituir limitación, la adición de la combinación de polímeros solubles en agua de alto peso molecular (90.000 ó 140.000 daltons) y de bajo peso molecular (30.000 daltons), y los ingredientes de almidón  
10 opcional, y de glucosa opcional a un disolvente que es capaz de disolverlos, tal como agua o etanol o una mezcla de etanol y agua. Tras la formación de una solución homogénea, el reactivo y cualquiera de los otros componentes opcionales, tales como plastificantes, colorantes, y/u otros componentes se pueden mezclar en la solución de polímero que contiene el reactivo. Alternativamente, se pueden añadir todos los componentes de la película y al  
15 mismo tiempo se mezclan para formar una solución o dispersión. También, una mezcla seca se puede mezclar mediante un mezclador en V. La mezcla seca se puede utilizar posteriormente para formar una solución o dispersión. Además, la mezcla seca puede ser sometida a un proceso de extrusión en estado fundido para formar una película tras el enfriamiento. Se debe entender que no se requiere ninguna secuencia de etapas particular, excepto cuando sea necesario para preparar una composición de película deseada. Por ejemplo, si una secuencia particular produce un precipitado no deseable, se puede utilizar una secuencia alternativa.

20 El reactivo puede ser soluble en la solución o puede ser suspendido o dispersado en la solución. Se puede utilizar cualquier reactivo o combinación de reactivos adecuados para un ensayo de diagnóstico particular. Son conocidos en la técnica reactivos adecuados para ensayos de diagnóstico particulares y se continúan descubriendo o creando. Entre los ejemplos de reactivos se incluyen, sin constituir limitación, proteínas, enzimas, anticuerpos, sustancias que muestran propiedades magnéticas, óxido de hierro, y otros compuestos o combinaciones de compuestos que muestran un cambio físico, tales como un cambio de color tras la exposición a una sustancia o campo magnético en particular.

25 La solución o dispersión que contiene el reactivo pueden procesarse adicionalmente en una película mediante una cualquiera de las muchas técnicas de moldeado, arrastre o extrusión. Por ejemplo, se puede pulverizar la solución o dispersión sobre un soporte tal como una cinta tratada de liberación. Alternativamente, por ejemplo, la solución o dispersión puede ser recubierta con rodillos sobre un sustrato de papel o película tratados para la liberación.

30 Después del recubrimiento de la solución o dispersión sobre una superficie de soporte, el disolvente se puede eliminar por energía radiante (tal como de infrarrojos), calor, convección, vacío, o cualquier combinación de estos para producir una película seca que contiene uno o más reactivos. La película seca resultante se puede enrollar en un rollo para su almacenamiento antes de su transformación posterior en películas individuales para dispositivos de diagnóstico específicos. Ya sea almacenada para el procesamiento futuro o inmediatamente después de la  
35 eliminación del disolvente, la película resultante se puede extraer de la superficie de soporte y posteriormente ser procesada para varias aplicaciones de uso final.

40 La película seca se puede procesar mediante cualquier técnica adecuada, incluyendo, por ejemplo, mediante troquelado o corte a través de la anchura de un rollo estrecho singular para preparar segmentos de cualquier tamaño o forma geométrica deseados. Los segmentos se pueden envasar posteriormente y se pueden procesar adicionalmente y ser incorporados en un dispositivo de ensayo. Cuando se incorpora una película en un dispositivo en lugar de una tira de ensayo fabricada mediante procesos convencionales, se puede mejorar la eficiencia del proceso de fabricación. Específicamente, el procesado posterior de los rollos que contienen el reactivo, el troquelado y la colocación del reactivo puede ser menos despilfarrador que los procesos de pulverización, recubrimiento, o  
45 arrastre convencionales. Se pueden aplicar ingredientes adicionales a la película seca, por ejemplo, mediante procesos de impresión, pulverizado, desempolvamiento, o adsorción de vapor, entre otros.

50 Un dispositivo de ensayo -1- que incluye una película desintegrable -10-, según un ejemplo de realización de la presente invención, se muestra en la figura 1. La película desintegrable -10- se utiliza para crear un canal de fluido tras la aplicación de un fluido de desintegración (no mostrado), tales como sangre, saliva, u orina. La película -10- se puede troquelar a partir de un rollo para crear un patrón de vía de fluidos. El patrón de la película se puede colocar entre capas adyacentes tales como recubrimientos adhesivos -12-. Los recubrimientos adhesivos -12-, por ejemplo, pueden ser ARcare™ 8890, ARcare™ 7840, o ARcare™ 7841 de Adhesives Research Inc., que son construcciones de adhesivos de doble cara utilizados en la formación de los canales de fluidos para los dispositivos de ensayo.  
55 Aunque el dispositivo de ensayo -1- incluye una sola película desintegrable -10-, según la presente invención, el dispositivo de ensayo -1- en su lugar pudiera incluir más de una película -10-. Alternativamente, se puede crear un canal de fluido, por ejemplo, utilizando una tinta de recubrimiento de alto peso de impresión de pantalla o impresión con chorro de tinta.

60 Según otra realización de la presente invención, una película desintegrable -20- se puede utilizar para proteger y aislar una capa de reactivo -23- o reactivo en un dispositivo de ensayo de diagnóstico -2-, tal como se muestra en la figura 2. La capa de reactivo -23- que contiene uno o más reactivos y la película -20- están en el canal de fluidos -27- y están soportados por una estructura de soporte -25-. El canal de fluidos -27- puede estar recubierto o no por una cubierta -28-. La cubierta -28- es preferentemente una cubierta transparente y, por ejemplo, puede ser un material adhesivo unido por calor a la estructura de soporte -25-.

Según la realización mostrada en la figura 2, la capa de reactivo es una película desintegrable, según la presente invención. En su lugar, la capa de reactivo -23- puede ser una capa de reactivo convencional (ejemplo comparativo). La capa de reactivo -23- es aislada por la película -20- hasta que la película es desintegrada por un fluido de desintegración (no mostrado). En dicho caso, la película -20- no necesita incluir un reactivo (ejemplo comparativo). La película -20- está configurada para actuar como una barrera a la capa de reactivo -23-. Tras la aplicación de un fluido de desintegración, tales como saliva, sangre u orina, al canal de fluidos -27-, la película de barrera -20- se desintegra lo que permite que un analito (no mostrado) contenido en el fluido encuentre la capa de reactivo -23-. De esta manera, la interacción entre los componentes de reactivo en el dispositivo de ensayo -2- se puede controlar mediante la selección del tiempo de desintegración y/o condiciones (por ejemplo, pH, temperatura, fuerza iónica, entre otras).

Los dispositivos de las figuras 1 y 2, aunque se refieren a la película desintegrable de la presente invención, se presentan solo a modo de ejemplo, y las películas, según la presente invención, se pueden incluir en otros dispositivos de ensayo, tales como dispositivos electrónicos, biosensores, varios dispositivos de flujo lateral, y tarjetas de ensayo, entre otros. Las películas también se pueden envasar y disponer como parte de un kit de ensayo.

Los siguientes ejemplos ilustrativos proporcionan un número de formulaciones específicas dentro del alcance de la presente invención. Estos ejemplos son solo a modo de ilustración y no tienen la intención de ser limitativos de ninguna forma. Se pueden utilizar varias alternativas, componentes, concentraciones, y excipientes opcionales (plastificantes, humectantes, cargas, preservantes, etc.) dadas las enseñanzas del presente documento para preparar películas delgadas de resistencia de la película y perfil de desintegración adecuados.

Realizaciones específicas de la presente invención se muestran en los ejemplos a continuación. Los ejemplos no son limitativos. Por consiguiente, se pueden preparar formulaciones adicionales, según la presente invención, de acuerdo con las enseñanzas del presente documento. Las concentraciones de los excipientes se expresan en partes por 100, aproximadamente.

Los ejemplos 1-3 muestran películas adecuadas para utilizar en ensayos de embarazo en humanos. Tal como es conocido en la técnica, los ensayos de embarazo se llevan a cabo mediante la detección de gonodotropina coriónica humana (hCG), por ejemplo, en una muestra de orina o sangre. Dichos ensayos se describen en las Patentes de EE.UU. Núm. 6,403,298; 5,712,172; y 4,496,654. Los reactivos enumerados en los ejemplos 1-3, específicamente, la sal orgánica, base orgánica, base inorgánica, ácido orgánico y proteína, pueden ser los conocidos por los expertos en la materia que son adecuados para permitir la detección de hCG en una muestra, tal como los que se dan a conocer en las Patentes de EE.UU. Núm. 4,496,654 y 5,712,172. Además, cada uno de los reactivos puede ser una combinación de los ingredientes individuales. Por ejemplo, la proteína puede ser una combinación de anticuerpos.

El ejemplo 1 es una composición para películas adecuadas para su utilización en una tira de ensayo de hCG, según un ejemplo de realización de la presente invención. Las películas del ejemplo 1 se pueden utilizar juntas en una tira de ensayo única. La primera película contiene dos reactivos, un ácido orgánico y una base inorgánica, y la segunda película contiene dos reactivos, una sal orgánica y una amina orgánica. Cada una de las películas incluye una solución de base común.

Solución de base para los ejemplos 1 y 2

Componente	Partes
Agua desionizada	81,8
Methocel™ E50	2,3
Methocel™ E5	3,0
Maltrin™ M180	2,3
IPC™ B792	2,9
Triacetin 4)	2,6
Polysorbate™ 80	3,4
Etanol	1,7

Ejemplo 1

Película 1: componente tampón

Componente	Partes
Agua desionizada	15,6
Ácido orgánico	2,84
Base inorgánica	11,1
Solución de base	70,4

Película 2: componente de proteína

Componente	Partes
Sal orgánica	3,8
Amina orgánica	6,1
Solución de base	90,1

5 Los ejemplos 2 y 3 ilustran la composición de una película única adecuada para utilizar en una tira de ensayo de hCG. Las películas de los ejemplos 2 y 3 incluyen cuatro reactivos cada una.

Ejemplo 2

Componente	Partes
Agua desionizada	18,4
Ácido orgánico	0,66
Base orgánica	2,48
Sal orgánica	1,83
Amina orgánica	1,73
Solución de base	74,9

10 Ejemplo 3 (ejemplo comparativo)

Componente	Partes
Kollicoat (ejemplo comparativo) IR	58,0
Polímero	1,0
Base orgánica	26,0
Sal orgánica	10,0
Proteína	2,0
Acrysol™ 6038a	4,0

Los ejemplos 4 y 5 ilustran composiciones de películas que incluyen óxido de hierro.

15 Ejemplo 4

Componente	Partes
Agua desionizada	59,0
Methocel (ejemplo comparativo) E50	3,2
Methocel (ejemplo comparativo) E5	4,5
Maltrin (ejemplo comparativo) M180	3,5
Pure-Cote (ejemplo comparativo)	3,5
Triacetina	3,7
Polysorbate (ejemplo comparativo) 80	4,9
Etanol	2,5
Óxido de hierro	15,1

20 Methocel E5, Methocel E50, Maltrin M180 y Pure-Cote se añaden a agua hirviendo con agitación constante. La mezcla se enfría aproximadamente a temperatura ambiente con agitación para dejar solubilizar los componentes. El óxido de hierro se mezcla con triacetina, polysorbate 80 y etanol hasta que el óxido de hierro se empapa. La solución acuosa se añade a la mezcla de óxido de hierro y se agita para formar una mezcla homogénea. La mezcla es desaireada antes del recubrimiento sobre un revestimiento de liberación. El recubrimiento se seca aproximadamente a 120°C durante aproximadamente 5 minutos.

25 Ejemplo 5 (ejemplo comparativo)

Componente	Partes
Agua desionizada	57,2
Methocel (ejemplo comparativo) E50	8,6
Glicerina	4,3
Óxido de hierro	29,9

30 Los ejemplos 6-9 son ejemplos proféticos, que ilustran formulaciones de películas de ejemplo, según la presente invención. El componente o componentes de reactivo no se enumeran dado que son reactivos específicos. Se puede utilizar cualquier reactivo adecuado. Las películas de los ejemplos 6-9 sustancialmente no contienen tensioactivos.

Ejemplo 6

	<b>Partes</b>
Methocel (ejemplo comparativo) E5	3,84
Methocel (ejemplo comparativo) E50	10,52
Klucel (ejemplo comparativo) JF	1,70
Maltrin (ejemplo comparativo) M180	2,27
IPC (ejemplo comparativo) B792	2,27
Reactivo 1	19,82
Reactivo 2	39,97
Sucralosa	2,00
Sorbitol	8,28
FD&C Rojo #40	0,08
PEG 400	9,25

5 Ejemplo 7

	<b>Partes</b>
Methocel (ejemplo comparativo) E5 Prem LV	6,14164
Methocel (ejemplo comparativo) E50 FG	4,34101
Klucel (ejemplo comparativo) JF	2,71067
Maltrin (ejemplo comparativo) M180	3,70464
IPC (ejemplo comparativo) B792	3,70193
Sorbitol	18,5
Sucralosa	2
FD&C Rojo #40	0,15
Reactivo 1	40,0001
Reactivo 2	18,75

Ejemplo 8

	<b>Partes</b>
Methocel (ejemplo comparativo) E5	7,60
Methocel (ejemplo comparativo) E50	5,32
Klucel (ejemplo comparativo) JF	3,31
Maltrin (ejemplo comparativo) M180	4,63
IPC (ejemplo comparativo) B792	4,63
Reactivo 1	39,55
Reactivo 2	15,58
Sucralosa	2,65
Sorbitol	16,59
FD&C Rojo #40	0,15

10

Ejemplo 9

	<b>Partes</b>
Methocel (ejemplo comparativo) E5	9,96
Klucel (ejemplo comparativo) JF	7,12
Maltodextrina	4,31
IPC (ejemplo comparativo) B792	14,31
Sucralosa	2,38
Reactivo	37,00
Sorbitol	14,93

15

Los ejemplos anteriores ilustran formulaciones de películas desintegrables que se desintegran en fluidos biológicos, tales como saliva, orina o sangre. Los ejemplos anteriores no constituyen una limitación. Por consiguiente, son posibles muchas composiciones adicionales de películas dentro del alcance de la presente invención, tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Película desintegrable para un dispositivo de diagnóstico, dicha película comprende:
- 5 un primer polímero soluble en agua que tiene un peso molecular de 30.000 daltons;  
un segundo polímero soluble en agua que tiene un peso molecular de 90.000 ó 140.000 daltons;  
como mínimo, un reactivo dirigido a reaccionar con un analito de interés en una muestra de fluido acuoso que se  
sospecha que contiene el analito; y  
10 en la que la película está en forma de una monocapa de un grosor para desintegrarse tras el contacto con el fluido  
acuoso aplicado al dispositivo de diagnóstico para liberar el reactivo.
2. Película, según la reivindicación 1, en la que, como mínimo, uno de los polímeros solubles en agua comprende  
un polímero derivado de celulosa.
- 15 3. Película, según la reivindicación 1, en la que el primer polímero soluble en agua tiene un peso molecular de  
30.000 daltons y el segundo polímero soluble en agua tiene un peso molecular de 90.000 daltons.
4. Película, según la reivindicación 1, en la que el primer polímero soluble en agua y el segundo polímero soluble  
20 en agua tienen una diferencia de pesos moleculares de 60.000 daltons o más.
5. Película, según la reivindicación 1, en la que, como mínimo, uno entre el primero y el segundo polímeros  
solubles en agua comprende hidroxipropilcelulosa.
6. Película, según la reivindicación 1, en la que, como mínimo, uno entre el primero y el segundo polímeros  
25 solubles en agua comprende hidroxipropilmetilcelulosa.
7. Película, según la reivindicación 1, en la que, como mínimo, uno entre el primero y el segundo polímeros  
solubles en agua comprende una mezcla de diferentes polímeros.
- 30 8. Película, según la reivindicación 1, en la que la película se desintegra en menos de 60 segundos después del  
contacto con un fluido acuoso.
9. Película, según la reivindicación 1, en la que la película tiene un grosor de 0,01016 a 0,254 mm (0,4 a 10 mil).
- 35 10. Película, según la reivindicación 1, en la que la película es parte de un dispositivo de capas múltiples.
11. Película, según la reivindicación 1, en la que el, como mínimo, un reactivo muestra propiedades magnéticas.
12. Película, según la reivindicación 1, en la que el, como mínimo, un reactivo reacciona con gonadotropina  
40 coriónica.
13. Película, según la reivindicación 1, en la que la película está esencialmente libre de tensioactivos.
14. Película, según la reivindicación 1, que comprende además un tercer polímero soluble en agua.  
45
15. Película, según la reivindicación 14, en la que el primer polímero soluble en agua tiene un peso molecular de  
30.000 daltons, el segundo polímero soluble en agua tiene un peso molecular de 90.000 daltons, y el tercer polímero  
soluble en agua tiene un peso molecular de 140.000 daltons.
- 50 16. Película, según la reivindicación 1, en la que la concentración del primer polímero soluble en agua es del 2% al  
10% del peso de la película seca y en la que la concentración del segundo polímero soluble en agua es del 2% al  
10% del peso de la película seca.
17. Película, según la reivindicación 1, que comprende además un componente de almidón.  
55
18. Película, según la reivindicación 17, en la que la concentración del componente de almidón es del 2% al 50%  
del peso de la película seca.
19. Película, según la reivindicación 17, en la que el componente de almidón comprende almidón instantáneo.  
60
20. Película, según la reivindicación 1, que comprende además un componente de glucosa.
21. Película, según la reivindicación 20, en la que la concentración del componente de glucosa es del 2% al 20%  
65 del peso de la película seca.
22. Película, según la reivindicación 20, en la que el componente de glucosa comprende maltodextrina.

23. Película, según la reivindicación 1, que comprende además un plastificante y/o humectante.
- 5 24. Película, según la reivindicación 23, en la que la concentración del plastificante y/o humectante es del 3% al 30% del peso de la película seca.
25. Película, según la reivindicación 23, en la que el plastificante comprende triacetina.
- 10 26. Película, según la reivindicación 1, que comprende además una carga.
27. Película, según la reivindicación 26, en la que la carga es una partícula dispersa.
28. Película, según la reivindicación 26, en la que la carga es una fase dispersa.
- 15 29. Método para llevar a cabo un ensayo de diagnóstico utilizando la película, según cualquiera de las reivindicaciones 1-28, en el que la película se pone en contacto con el líquido acuoso durante un periodo de tiempo suficiente para desintegrar la película y liberar el, como mínimo, un reactivo.
- 20 30. Dispositivo de ensayo de diagnóstico para detectar la presencia de un analito de interés en una muestra de fluido acuoso que se sospecha que contiene el analito, que comprende:
- una estructura de soporte; y  
como mínimo, una película desintegrable soportada por la estructura de soporte, comprendiendo la película desintegrable:
- 25 un primer polímero soluble en agua que tiene un peso molecular de 30.000 daltons, y  
un segundo polímero soluble en agua que tiene un peso molecular de 90.000 ó 140.000 daltons;  
como mínimo, un reactivo dirigido a reaccionar con un analito de interés en una muestra de fluido acuoso; y  
en la que la película está en forma de una monocapa de un grosor suficiente para desintegrarse tras el contacto con  
30 el fluido acuoso aplicado al dispositivo de diagnóstico para liberar el reactivo.
31. Dispositivo de ensayo, según la reivindicación 30, en el que el, como mínimo, un reactivo muestra propiedades magnéticas.
- 35 32. Dispositivo de ensayo, según la reivindicación 30, en el que el reactivo se dirige a reaccionar con gonadotropina coriónica humana en el fluido acuoso.
33. Dispositivo de ensayo, según la reivindicación 30, que comprende además una serie de películas.
- 40 34. Dispositivo de ensayo, según la reivindicación 30, en el que el, como mínimo, un reactivo está dentro de la película.
35. Dispositivo de ensayo, según cualquiera de las reivindicaciones 30-34, en el que el dispositivo es un dispositivo de flujo lateral.
- 45 36. Dispositivo de ensayo, según cualquiera de las reivindicaciones 30-34, en el que la estructura de soporte es un recubrimiento adhesivo.
- 50 37. Método para llevar a cabo un ensayo de diagnóstico utilizando el dispositivo de ensayo, según cualquiera de las reivindicaciones 30-36, que comprende poner en contacto la muestra de fluido acuoso, como mínimo, con una película desintegrable durante un periodo de tiempo suficiente para desintegrar la película y liberar el, como mínimo, un reactivo.
- 55 38. Dispositivo de ensayo, según cualquiera de las reivindicaciones 30-34, en el que se crea un canal de fluidos en la película desintegrable tras la aplicación del fluido acuoso.
39. Película, según cualquiera de las reivindicaciones 1-28, en la que la película desintegrable es parte de un dispositivo electrónico, biosensor, dispositivo de flujo lateral, tarjeta de ensayo, o kit de ensayo.

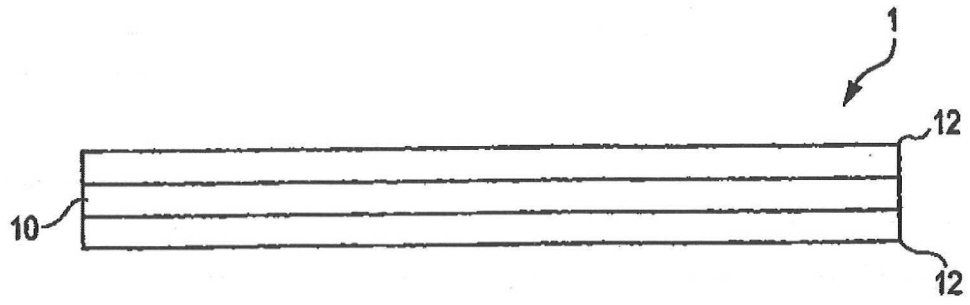


FIG. 1

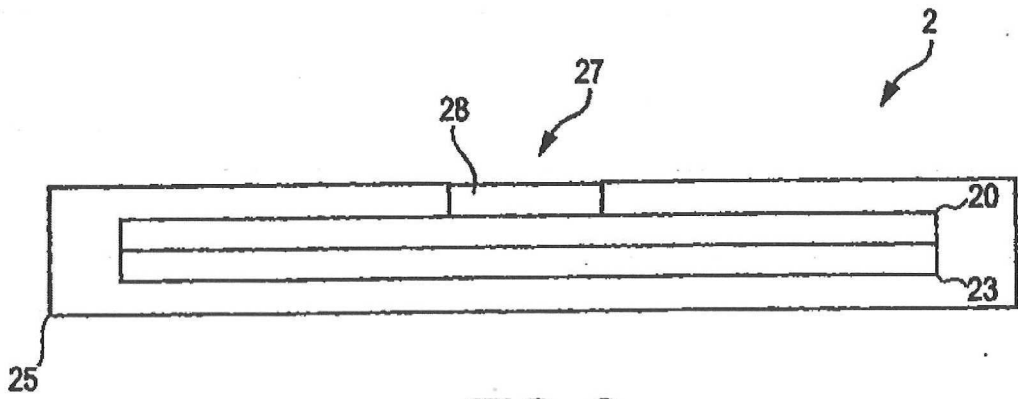


FIG. 2