



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 322 304**

51 Int. Cl.:  
**G01N 21/86** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99950567 .0**

96 Fecha de presentación : **29.09.1999**

97 Número de publicación de la solicitud: **1117989**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.07.2001**

54 Título: **Procedimiento para la evaluación fotométrica de elementos de ensayo.**

30 Prioridad: **29.09.1998 DE 198 44 500**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**18.06.2009**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**18.06.2009**

73 Titular/es: **Roche Diagnostics GmbH**  
**Sandhofer Strasse 116**  
**68305 Mannheim, DE**

72 Inventor/es: **Miltner, Karl;**  
**Ruppender, Uwe;**  
**Wersig, Christian y**  
**Zimmer, Volker**

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

**ES 2 322 304 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

Procedimiento para la evaluación fotométrica de elementos de ensayo.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la evaluación fotométrica de elementos de ensayo con zonas de detección, el cual procedimiento es estable con respecto a las tolerancias del posicionamiento de la zona de detección.

10 La evaluación fotométrica de elementos de ensayo constituye uno de los procedimientos más usuales para la determinación rápida de la concentración de analitos en muestras. Las evaluaciones fotométricas se emplean en general en el terreno de la analítica del medio ambiente y ante todo en el campo del diagnóstico médico. En particular, en el campo del diagnóstico de glucosa en sangre a partir de sangre capilar, los elementos de ensayo que se evalúan fotométricamente poseen una gran importancia.

15 Una tendencia general en la ejecución de ensayos analíticos, es el de reducir las cantidades de la muestra. Esto tiene a menudo su fundamento en que solamente se dispone de pequeñas cantidades de muestra. Por ejemplo en el campo de la determinación del azúcar en sangre, el mismo diabético se extrae unas gotas de sangre de la yema del dedo y una disminución de la cantidad de sangre necesaria para el ensayo conlleva una evidente ganancia en comodidad. A esto se debe principalmente que se intente que el pinchazo para la extracción de sangre sea poco profundo. Unido  
20 a esta reducción de las cantidades está una disminución del tamaño de los elementos de ensayo y en particular de las zonas de detección, en las cuales transcurre la propia reacción de la muestra con los analitos. Para poder efectuar una exacta evaluación fotométrica, es necesario un preciso posicionamiento de la zona de detección. En el estado actual de la técnica se conoce una gran cantidad de soportes para fijar los elementos de ensayo, con los cuales se consigue un muy exacto posicionamiento relativo de las zonas de detección y de la óptica de medición. Como ejemplo se puede citar en este punto la patente europea EP-B-0618 443 (correspondiente a: US-5.424.035), según la cual se logra un posicionamiento de las zonas de detección del elemento de ensayo tanto lateral como también verticalmente para la óptica de medición. Como representante de un gran número de otros sistemas de análisis, que efectúan un posicionamiento de las tiras de ensayo, puede citarse el documento EP-A-0 319 922. Los sistemas ya conocidos en el estado actual de la técnica, trabajan sin embargo con zonas de detección que sobrepasan los 5 mm x 5 mm. En  
30 consecuencia, un posicionamiento correcto no es problemático relativamente, en el estado actual de la técnica. Cuando por el contrario quiere reducirse el desplazamiento lateral de la zona de detección, entonces tanto la producción de los elementos de ensayo como también el posicionamiento dentro de un sistema de evaluación deben efectuar grandes esfuerzos para conseguir unos resultados seguros del análisis. La tarea de la presente invención consiste en proponer un procedimiento y un aparato para la evaluación fotométrica de los elementos de ensayo, con el cual puedan también ser evaluados fiablemente elementos de ensayo con zonas pequeñas de detección.

La presente tarea se soluciona con un procedimiento para la evaluación fotométrica de elementos de ensayo, en el cual el elemento de ensayo se introduce en un soporte, en el cual su zona de detección está posicionada de forma que está colocada frente a una unidad de iluminación con por lo menos dos fuentes de luz. Después de entrar en contacto la  
40 zona de detección con la muestra que se analiza, se activa una primera fuente de luz para iluminar la zona de detección. La luz reflejada por la zona de detección o la luz transmitida por la zona de detección, se detecta como la primera señal de detección. A continuación se activa una segunda fuente de luz, con lo cual se ilumina una segunda región de la zona de detección, la cual se desplaza frente a la primera región en la dirección de la tolerancia de posicionamiento esperada. La luz reflejada por esta zona o transmitida a través de esta zona, se detecta como una segunda señal de detección. Las señales de detección recibidas a partir de las dos regiones se comparan y se analiza cuál de las señales se ha producido a partir de una región que esté completamente dentro de la zona de detección, mediante la iluminación. Se selecciona la correspondiente señal de detección, y se evalúa en principio de manera conocida para la determinación de la concentración del analito.

50 A continuación se describe el procedimiento según la invención, para compensar las tolerancias de posicionamiento.

Un dispositivo con el cual puede efectuarse el procedimiento según la invención, consta de un soporte de fijación en el cual se posiciona un elemento de ensayo frente a una unidad de iluminación perteneciente igualmente al dispositivo. Como soporte de fijación pueden emplearse en el marco de la presente invención, los soportes de fijación ya conocidos en el estado actual de la técnica, en particular el soporte de fijación descrito en la patente PE-B-0 618 443. A pesar de la forma de proceder según la invención, la cual sirve para la estabilización de la evaluación frente a las tolerancias de posicionamiento, es deseable, que se logre ya por medio del soporte fijador un posicionamiento lo más exacto posible de la zona de detección. Las tolerancias de posicionamiento no permiten sin embargo bajar por debajo  
60 de un determinado umbral, lo cual es más evidente cuando en las tolerancias de posicionamiento se consideran las dimensiones individuales que allí toman parte. Del lado del sistema de evaluación existen ya una serie de tolerancias para un posicionamiento con relación al dispositivo de fijación y la unidad de iluminación. Otras tolerancias intervienen por el posicionamiento del elemento de ensayo dentro del dispositivo de fijación, especialmente por un cierto juego entre el elemento de ensayo y el dispositivo de fijación que es necesario para que sea posible por el usuario la introducción del elemento de ensayo en el soporte de fijación. Además, el propio elemento de ensayo no admite ciertas tolerancias de fabricación, las cuales se refieren en particular al ancho del elemento de ensayo. Finalmente se producen todavía tolerancias en la posición relativa de la zona de detección para el elemento de ensayo o respectivamente el material de soporte del elemento de ensayo. En particular, en los elementos de ensayo de separación capilar, puede ser

considerable el desplazamiento de la zona de detección en dirección al ancho del elemento de ensayo, sobre lo cual se entrará en detalle más adelante.

5 El dispositivo según la invención para la evaluación fotométrica contiene además una unidad de iluminación con por lo menos una primera y una segunda fuente de luz. Con estas fuentes de luz se iluminan las regiones que están  
10 unas junto a otras en la zona de detección. Las fuentes de luz están colocadas de tal forma que los centros de las regiones iluminadas de la zona de detección son deslizables uno contra otro en dirección a una esperada tolerancia de posicionamiento. Esto puede lograrse por ejemplo desplazando entre sí las propias fuentes de luz e iluminando esencialmente en sentido vertical las zonas de detección. Las fuentes de luz pueden sin embargo estar colocadas de  
15 forma que irradian oblicuamente la zona de detección, y la distancia de las regiones irradiadas se logra esencialmente basculando las fuentes de luz frente a la vertical con relación a la zona de detección. Como fuentes de luz figuran en principio las fuentes de luz apropiadas en el estado actual de la técnica para sistemas diagnósticos de detección. Son preferidos los diodos de luz, dado que éstos tienen un consumo de energía relativamente pequeño y dan un espectro con bandas relativamente estrechas. Son particularmente preferidos los diodos de luz miniaturizados los cuales pueden ser  
20 aplicados directamente sobre una platina semiconductor. Dichos diodos de luz pueden obtenerse en unas dimensiones, que conducen también, sin una óptica interconectada, a grandes manchas de luz apropiadas sobre la zona de detección. Es ventajoso en el marco de la presente invención sin embargo, emplear adicionalmente a las fuentes de luz, una óptica de lentes y eventualmente también diafragmas. Es ventajoso adaptar la forma de las regiones iluminadas a la forma de la zona de detección y a las tolerancias esperadas. En una zona de detección rectangular es por ejemplo ventajoso, iluminar regiones ovales o incluso rectangulares. Esto puede lograrse mediante lentes o diafragmas adecuados.

En el marco de la presente invención, está previsto también emplear más de 2 fuentes de luz. Cuando se espera una tolerancia de posicionamiento particularmente grande en una dirección de la zona de detección, pueden emplearse  
25 por ejemplo 3 fuentes de luz, las cuales en dirección a la tolerancia de posicionamiento esperada, iluminan regiones desplazadas sobre la zona de detección. La presente invención es también apropiada, para captar tolerancias de posicionamiento en más de una dirección. Por ejemplo pueden emplearse 4 fuentes de luz las cuales iluminan regiones en forma de un cuadrado o rectángulo. Con una disposición de esta clase se puede evitar una medición errónea mediante la exactitud de posicionamiento tanto en la dirección de un lado del cuadrado como también en la dirección perpendicular.

30 En un procedimiento de evaluación fotométrico de los elementos de ensayo se pone en contacto una muestra con la zona de detección del elemento de ensayo. La toma de contacto debe interpretarse, o bien que las muestras se entregan directamente sobre la zona de detección, o bien que la muestra es transportada dentro de la zona de detección. Este último es en particular el caso de elementos de ensayo de separación capilar, en los cuales la muestra  
35 (por regla general sangre capilar de la yema del dedo), es conducida a la ranura capilar y a través de ésta se introduce en la zona de detección. Pueden concebirse también otras versiones, en las cuales se obtiene una muestra sólida, por ejemplo mediante frotado de un vellón sobre un objeto, sobre el cual se aplica el vellón, y la muestra es transportada a continuación mediante un fluido auxiliar, desde el vellón a la zona de detección, como por ejemplo es el caso en algunos ensayos rápidos de fármacos. Además existen tiras de ensayo cromatográficas en las cuales la muestra se  
40 transporta sobre materiales absorbentes en la zona de detección. De lo mencionado anteriormente se desprende que las muestras en el sentido de la invención son en primera línea muestras líquidas, como por ejemplo sangre, pero sin embargo entran también en consideración, muestras de materiales sólidos.

La muestra puesta en contacto con la zona de detección conduce en los elementos de ensayo a una modificación  
45 detectable de la zona de detección. La producción de modificaciones detectables como consecuencia de la reacción de un analito contenido en la muestra con un sistema de reactivos es ya conocido desde hace tiempo por el estado actual de la técnica, de manera que en este punto no se detalla nada más. Para la presente invención es sin embargo importante, que la modificación detectable pueda ser suficientemente detectada con las fuentes de luz empleadas y el detector empleado. Este es el caso cuando en una zona de detección tiene lugar un cambio de color el cual es absorbido por la  
50 radiación emitida por las fuentes de luz, y con ello se debilita la luz transmitida o reflejada. Sin embargo es posible también el caso contrario, en el cual un colorante cuya presencia es fotométricamente detectable se destruye mediante la reacción del sistema de reactivos con un analito, y la propia señal de medición está disminuida por el debilitamiento de la luz transmitida o reflejada. La denominación de luz o fuente de luz debe entenderse en el marco de la invención como que comprende regiones de longitud de onda que son utilizables en dispositivos ópticos, es decir juntamente con  
55 la región visual y también UV e IR.

En el marco de la presente invención pueden emplearse en el estado actual de la técnica, detectores conocidos desde hace tiempo, en particular detectores semiconductores. Es importante seleccionar el o respectivamente los detectores,  
60 de forma que la radiación reflejada a partir de la zona de detección o respectivamente transmitida a través de la zona de detección, conduce a una señal, cuando el detector es iluminado con ella. Pueden emplearse ventajosamente aquellos detectores, que tienen su máxima sensibilidad en la región de la radiación reflejada o transmitida. Eventualmente pueden emplearse también filtros, que son atravesados selectivamente por la radiación de medición, para hacer más estable la detección contra influencias perjudiciales.

65 Para la ejecución del procedimiento según la invención se activa en primer lugar una primera fuente de luz de la unidad de iluminación para la irradiación de una primera región de la zona de detección y la señal generada en el detector durante la activación del detector se designa como primera señal del detector. A continuación se desactiva la primera fuente de luz y la segunda fuente de luz se activa para la irradiación de una segunda región, en donde la señal

## ES 2 322 304 T3

generada por el detector se designa como segunda señal de detección. Las conexiones eléctricas y el procedimiento para la activación de las fuentes de luz, en particular los diodos de luz, son ya conocidos desde hace tiempo por el estado actual de la técnica. A título de ejemplo se cita el documento US-5.463.467, en el cual está descrita una activación de los diodos de luz para la ejecución de análisis fotométricos. En el marco de la presente invención está también previsto activar las fuentes de luz mediante señales, lo cual permite eliminar las influencias externas de luz de la señal detectada, como se describe en la citada patente US-5.463.467.

Un paso esencial del procedimiento según la invención consiste en comparar las señales detectadas y determinar cuál de las señales o respectivamente cuál de ambas señales ha generado a través de la irradiación una zona que está completamente dentro de la zona de detección. Esta determinación puede lograrse de diferentes maneras. Cuando en la zona de detección tiene lugar mediante el analito una reacción coloreada, se comparan la primera y segunda señal de detección, y la señal de luz más fuertemente debilitada se escoge como que está completamente dentro de la zona de detección. Si por el contrario tiene lugar una reacción en la cual el color se desintegra por el analito, entonces se escoge como señal localizada completamente dentro de la zona de detección aquella que ha experimentado el debilitamiento más pequeño. Pueden seguirse los dos caminos citados sin que en la zona de detección se efectúe una medición con el analito antes de la reacción, para determinar un valor ciego. Sin embargo, se prefiere en el marco de la invención, efectuar en primer lugar con la primera y segunda fuente de luz, mediciones en la zona de detección antes de la reacción con la muestra. Las señales de detección así determinadas, pueden tomarse como base tanto para la determinación de cuál señal es atribuible a una completa posición de la región irradiada dentro de la zona de detección, como emplearse también como valor base (el llamado valor del blanco) para la determinación de la concentración del analito. Cuando las mediciones han sido efectuadas con fuentes de luz en un elemento de ensayo que todavía no ha reaccionado, entonces el paso de determinación según la invención puede efectuarse ventajosamente determinando para cada fuente de luz el aumento de la señal antes y después de la reacción de la zona de detección con la muestra, y escogiendo aquella fuente de luz para la determinación de la concentración de analito, para la cual se ha obtenido el aumento de señal más grande.

La elección de una de las por lo menos dos fuentes de luz como apropiadas para la determinación de la concentración del analito puede también lograrse, sin que para ello sea necesario que la zona de detección tome contacto con la muestra. Esto puede conseguirse por ejemplo, cuando la zona de detección es de un material claro y el elemento de ensayo en la región que limita con la zona de detección está constituido por un material oscuro. Cuando se efectúan mediciones en un elemento de ensayo de esta clase con la primera y la segunda fuente de luz, y se compara, entonces se puede elegir la fuente de luz, con la cual se obtiene la señal de remisión más alta, como apropiada para la determinación de la concentración de analito. Además es posible configurar la zona de detección para que sea, por lo menos parcialmente, transparente, mientras que en la región del elemento de ensayo que limita con la zona de detección sea esencialmente opaca a la luz. Cuando a continuación se efectúa una medición de la transmisión, puede escogerse entonces aquella fuente de luz que produzca la más alta transmisión. En el caso de que se tomara por adelantado como referencia, una señal mayor o menor, puede llamarse "señal en bruto" como se genera en el detector en la activación de las fuentes de luz. Es ventajoso todavía, corregir las señales en bruto antes de su comparación, es decir, se toma en consideración la geometría de la iluminación así como la oscilación de la intensidad de una fuente de luz a otra fuente de luz. Esto se puede lograr por ejemplo mediante la normalización de las señales sobre los valores de los blancos (formación de cocientes de la señal actual y de la señal en el elemento de ensayo sin reaccionar o estándar).

A continuación, se aclara con más detalle la presente invención a la vista de algunas figuras:

Figura 1: representación en perspectiva y en corte transversal de un elemento de ensayo de separación capilar

Figura 2: corte transversal a través de un dispositivo, longitudinalmente a un elemento de ensayo introducido

Figura 3: corte transversal a través de un dispositivo transversalmente al elemento de ensayo

Figura 4: representación en bloque de un dispositivo de evaluación

Figura 5: posición de regiones irradiadas sobre la zona de detección

Figura 6: regiones irradiadas sobre la zona de detección

Figura 7: curso de la señal medida en la región de control

Figura 8: curso de la señal en la introducción del elemento de ensayo.

La figura 1A muestra el elemento de ensayo de separación capilar en una vista en perspectiva. El elemento de ensayo posee una lámina de soporte (2) y una lámina de cubierta (3). Entre estas láminas se encuentra un soporte distanciador (4), el cual presenta una escotadura de forma que entre la lámina de soporte y la lámina de cubierta se forma una separación capilar. Para la ejecución de un ensayo de diagnóstico el líquido de muestra, por regla general sangre capilar, se conduce hasta la abertura (5) de la separación capilar. El líquido de muestra se mueve a causa de las fuerzas capilares a través del canal y alcanza el papel reactivo (6). El papel reactivo (6) se aplica por su parte igualmente sobre el soporte distanciador (4), de forma que la presencia del líquido de muestra en la rendija capilar (7), solamente la parte central del papel reactivo se humedece con la muestra y tiene lugar la formación de una coloración

## ES 2 322 304 T3

o respectivamente de una señal. Esta región central que puede utilizarse para la determinación de la concentración de analito, recibe el nombre de zona de detección (10). El tamaño de la zona de detección del ejemplo representado es de aproximadamente 2 x 3 mm. Una zona de detección pequeña de esta clase, conlleva sobre la técnica de medición en particular, dos problemas. Por una parte debe obtenerse en la zona de detección una señal lo suficientemente fuerte para permitir una determinación fiable de la concentración del analito, y por otra parte debe garantizar que en la evaluación de la zona de detección no tendrá lugar ninguna contribución de la remisión de fuera de la zona de detección. Ambos requisitos están en la práctica estrechamente unidos entre sí, puesto que para aumentar la señal de medición es preciso medir la zona de detección lo más completamente posible, lo cual significa que se corre el peligro de obtener aportaciones de fuera de la zona de detección cuando no se puede asegurar ningún exacto posicionamiento de la zona de detección para la unidad de iluminación. El problema del posicionamiento es en los elementos de ensayo por rendija capilar, particularmente grande, puesto que la posición de la rendija capilar oscila con relativa fuerza condicionada por la fabricación. Sin embargo, con la presente invención es posible de manera fácil, por un lado la evaluación de una parte relativamente grande de la zona de detección, y por otra parte evitar las aportaciones erróneas de regiones situadas fuera de la zona de detección.

La figura 2 muestra un dispositivo según la invención (20) en una representación transversal, con un elemento de ensayo (1) representado en corte longitudinal. El dispositivo (20) posee un canal, en el cual puede deslizarse un elemento de ensayo (1). La figura 2 muestra el posicionamiento de un elemento de ensayo en la posición de evaluación. Para mantener el elemento de ensayo en esta posición, el dispositivo posee un pivote (21) dispuesto deslizable con un extremo terminado en forma cónica hacia abajo. En un posicionamiento adecuado, la punta del pivote se encuentra dentro de una escotadura del elemento de ensayo, de manera que el elemento de ensayo queda fijo y posicionado en la dirección de su eje longitudinal. El pivote (21) puede también servir para señalar eléctricamente la ausencia de un elemento de ensayo o respectivamente de su posicionamiento. Para ello el pivote está construido eléctricamente conductor y en la cara opuesta del dispositivo está dispuesto un contacto (26). Sin un elemento de ensayo, el pivote presiona mediante un muelle contra el contacto (26) y se produce un contacto eléctrico entre estos dos elementos. Cuando se introduce un elemento de ensayo éste se desliza en primer lugar entre el pivote (21) y el contacto (26), de forma que el contacto eléctrico se levanta. Cuando la introducción del elemento de ensayo continúa, el pivote (21) atraviesa la muesca del elemento de ensayo y el contacto eléctrico se cierra de nuevo.

En la figura 2 se representa además una disposición óptica para la evaluación del elemento de ensayo. En la posición de evaluación la zona de evaluación (10) del elemento de ensayo está posicionada frente a una lente (22), sobre cuya cara opuesta de la misma se encuentran las fuentes de luz (23, 24). La fuente de luz (23) sirve para la iluminación de la zona de detección para determinar una concentración de analito. Con la fuente de luz (24) se ilumina una zona sobre la zona de detección, que está bastante alejada de la abertura de entrada (5) del líquido de muestra, como la zona iluminada por la fuente de luz (23). Con la fuente de luz (24) se puede efectuar por consiguiente el procedimiento según la invención para la identificación de una muestra problema. A causa del grado de miniaturización requerido, las fuentes de luz (23, 24) están constituidas como diodos de luz, los cuales se aplican directamente sobre la platina semiconductor.

La figura 2 muestra además un detector semiconductor (25), el cual detecta la radiación reflejada por la zona de detección.

El posicionamiento lateral del elemento de ensayo en el dispositivo puede deducirse de la figura 3. El elemento de ensayo (1) se encuentra en un canal (30), que impide que se produzca un desplazamiento lateral. Debido a las oscilaciones de fabricación de los elementos de ensayo, el canal (30) debe estar dimensionado de forma que pueda recibir todavía los elementos de ensayo que se esperan más grandes. De ello se deduce que los elementos de ensayo más pequeños condicionados por la fabricación no se posicionarán correctamente en el canal (30), sino que podrían deslizarse lateralmente. A pesar de ello, para poder medir con seguridad en todos los elementos de ensayo una señal de la zona de detección la cual procede de una región iluminada la cual está completamente dentro de la zona de detección, puede emplearse el procedimiento según la invención. Para ello el dispositivo posee las fuentes de luz (23, 23'), las cuales están colocadas una junto a la otra en dirección transversal al elemento de ensayo. Para la colocación óptica es ventajoso que una imagen de las fuentes de luz mediante una lente (22) ó un sistema de lentes se efectúen sobre la zona de detección del elemento de ensayo. La distancia de las fuentes de luz entre sí, así como a la zona de detección y la exposición de la lente (22), están escogidas de forma que en conexión con la figura 5, se mantengan las condiciones marginales descritas más adelante.

La figura 4 muestra una representación esquemática en bloques de un aparato para la evaluación fotométrica de elementos de ensayo. La primera fuente de luz L1 y la segunda fuente de luz L2 están colocadas una junto a otra, de manera que siendo diferentes una de otra, iluminan sin embargo las regiones B1 y B2 que se solapan dentro de la zona de detección (10). El detector (D) recibe de la zona de detección una radiación reflejada difusa y conduce la correspondiente señal a la unidad de control (S). La unidad de control activa las fuentes de luz L1 y L2, una después de otra y registra las correspondientes señales recibidas. Estas señales se conducen a la unidad de evaluación (A), en donde las señales se comparan entre sí y como ya se ha descrito más arriba se selecciona una señal apropiada. En el ejemplo descrito, ambas regiones B1 y B2 están completamente dentro de la zona de detección (10), de forma que ambas pueden ser utilizadas para el cálculo de la concentración del analito. En consecuencia, una de las señales se utiliza para calcular de forma conocida la concentración de analito, la cual a continuación se conduce a un display (DIS) o pantalla. En el caso presente puede servir también una señal promedio para la determinación de la concentración.

## ES 2 322 304 T3

La figura 5 muestra algunos ejemplos de como pueden ser colocadas las regiones irradiadas en relación unas con otras y en relación a la zona de detección. La figura 5A muestra una colocación particularmente preferida, en la cual las regiones iluminadas B1 y B2 presentan una forma oval y se solapan parcialmente. En el ejemplo representado se utilizaría la señal detectada en la región B2 iluminada, para el cálculo de la concentración de analito, puesto que esta región está completamente dentro de la zona de detección (10), en donde por el contrario la señal recibida de la región B1 está falseada por la contribución de fuera de la zona de detección. En la figura 5A se proporciona además un sistema de coordenadas, que puede servir para facilitar la descripción de las figuras. En la colocación seleccionada en la figura 5A, de las regiones iluminadas, se pretende compensar una tolerancia en la posición de la zona de detección en dirección al eje de las X. Para ello se seleccionan las regiones de iluminación de tal forma que una recta de unión a través de su punto de gravedad es esencialmente paralela a la dirección en la cual se espera o respectivamente debe ser captada una tolerancia de la posición. La figura 5B muestra una versión en la cual es posible una compensación de la tolerancia de posición tanto de la dirección del eje de las X, como en la dirección del eje de las Y. Han sido seleccionadas aquí, 4 regiones iluminadas, que están transferidas mutuamente en dirección del eje de las X y del eje de las Y. Puesto que las regiones B1, B3 y B4 dan motivo a remisiones con proporciones de fuera de la zona de evaluación, se utiliza para la evaluación la región B2, puesto que ésta se halla completamente dentro de la zona de detección.

En la figura 5C se representa una versión con la cual pueden ser captadas particularmente grandes oscilaciones de posición de la zona de detección en la dirección del eje de las X. En la dirección del eje de las X, en la cual es crítica la tolerancia de la posición, se escogen tres regiones de iluminación que están distanciadas entre sí. Si se hubieran empleado únicamente las regiones B1 y B2, entonces no habría sido posible ninguna evaluación apropiada, pero sin embargo esto es posible mediante la región B3.

La figura 5D muestra una versión menos preferida, en la cual las regiones iluminadas B1 y B2 no se solapan, e incluso existe entre ellas una zona libre. Como se representa en la figura, pueden aparecer en esta colocación posiciones en las cuales ni con la una ni con la otra región de iluminación es posible una evaluación exacta. En consecuencia, se prefiere en el marco de la presente invención que las regiones iluminadas se solapen o por lo menos sean directamente contiguas entre sí.

En la figura 5E se representa igualmente una versión menos preferida. Las regiones iluminadas se han escogido en este caso tan grandes, que en una posición central de la zona de detección, las dos sobresalen por encima de la zona de detección. Una exacta evaluación de la zona de detección no es posible con ninguna de las dos regiones. En el marco de la presente invención se prefiere por todo ello, que el ancho total (b) de las dos fuentes de luz sea más pequeño que el correspondiente ancho de la zona de detección. En correspondencia, cada ancho de cada región de iluminación individual debe ser más pequeño que la zona de detección. Como ya se ha citado, debe pretenderse que las regiones iluminadas sean lo más grandes posible para tener un máximo rendimiento de la señal y con ello una buena relación señal/ruido. En un caso aislado debe acordarse un compromiso entre el tamaño de la región de iluminación y sus solapados, lo cual por una parte asegura que en las tolerancias de posición esperadas habrá siempre una de las regiones iluminadas que se halla completamente dentro de la zona de detección, y por otra parte la señal recibida de una región de iluminación individual es suficientemente grande para garantizar la necesaria exactitud de la evaluación.

La figura 5F muestra una representación con la cual puede determinarse la máxima tolerancia permitida de la posición, para una colocación predeterminada. Se han representado dos regiones iluminadas B1 y B2, las cuales presentan en la dirección de la tolerancia de la posición siempre el ancho (d). Las regiones iluminadas B1 y B2 se solapan en dirección de la tolerancia de la posición en el segmento "a", de manera que se obtiene un ancho total "b" de  $2d - a$ . En la posición límite P1 se encuentra B2 todavía completamente dentro de la zona de detección, mientras que en la posición límite P2 (subrayada) situada frente a la otra, la región B1 se encuentra justo completamente dentro de la zona de detección. De aquí se desprende que la tolerancia de la posición máxima tolerada mediante la colocación, es de  $X - a$ , en donde X es el ancho de la zona de detección en dirección a la tolerancia de la posición. Con ello se conoce el ancho X de la zona de detección y asimismo la desviación máxima de la posición que aparece, de una posición extrema a la otra ( $T_{\text{máx}}$ ), de forma que puede calcularse el necesario solapado "a" de la región iluminada como  $X - T_{\text{máx}}$ .

Como ya se ha mencionado, el ancho "b" ( $b = 2d - a$ ) debe ser más pequeño que X, para evitar el caso representado en la figura 5E. Generalizado sobre diferentes diámetros ( $d_1, d_2$ ) se obtiene:  $d_1 + d_2 - a < X$ . Cuando en correspondencia ha sido escogido el necesario solapado "a" en consideración a la tolerancia de la posición esperada, entonces se calcula el diámetro máximo "d" (respectivamente el ancho en las regiones no redondeadas) de una única región iluminada como sigue:  $d = (X + a)/2$ . Se prefiere que el máximo solapado de las regiones se escoja de forma que sea más pequeño de la mitad del diámetro del ancho ( $a < (d_1 + d_2)/2$ ). Para una elección apropiada del solapado es importante por regla general no solamente el solapado lineal "a" sino también la relación entre el tamaño de la superficie solapada ( $F_{\text{a}}$ ) y la superficie de una región irradiada ( $F_{\text{B}}$ ). Experimentalmente se ha demostrado que  $F_{\text{a}}/F_{\text{B}}$  es ventajoso que sea más pequeño de 0,3, y particularmente ventajoso, entre 0,2 y 0,1.

Las consideraciones geométricas anteriores no deben minimizar que para la determinación de la relación óptima, por regla general son necesarios experimentos. Esto se deduce de que las regiones iluminadas representadas no pueden describir las verdaderas relaciones más que en parte. Por regla general se puede deducir de las mismas que es lógico calcular con regiones que describen aproximadamente el 90% de la intensidad total. De ello se deduce sin embargo, que una cierta parte de radiación reflejada ya procede de fuera de la zona de detección, cuando la región iluminada

## ES 2 322 304 T3

dibujada, está situada en la periferia. En la práctica, aparece además el problema de que el ajuste de las fuentes de luz oscila por razones técnicas de la producción, y con ello deben incluirse igualmente en el cálculo las tolerancias en el solapado de las regiones iluminadas. Por ello, en la práctica se efectúa de preferencia, el dimensionado de un dispositivo según la invención, de forma que en la posición extrema, por lo menos una de las fuentes de luz irradia completamente la zona de detección y aproximadamente un 10% del diámetro de la mancha de luz está alejada del borde más próximo de la zona de detección.

La figura 6 muestra una zona de detección y las regiones irradiadas de la misma, B1, B2, así como la región A. La flecha representada en la figura 6 muestra la dirección del flujo del líquido de muestra en un elemento de separación capilar, según la figura 1. Según el mismo, el líquido entra en contacto en primer lugar con la zona de detección debajo de las regiones B1 y B2, y a continuación, con la zona A. Es ventajoso escoger la posición de la región A de forma que no se solapa o solamente se solapa en parte con las regiones B1 y B2. Mientras que una evaluación de las regiones B1 y B2 se efectúa de preferencia en un margen de longitudes de onda, en el cual la muestra no es absorbida como tal, pero si lo es el color formado en la zona de detección, se emplea para la medición de la región A de preferencia en un margen de longitud de onda, en el cual se absorbe la propia muestra. En el caso de líquidos acuosos la evaluación de la región A puede por ejemplo emplearse radiación infrarroja, la cual se halla en el margen de las bandas del agua. De preferencia, se emplea sin embargo una longitud de onda en el margen de 800 a 950 nm, con la cual puede detectarse una absorción del propio color de la sangre. Después de la aplicación del líquido de muestra en un elemento de separación capilar según la figura 1, se mide en la región A continuamente y se detecta la radiación transmitida a través de la zona de detección o remitida por la zona de detección. Esto puede efectuarse con el mismo detector, con el cual también más tarde se efectúa la evaluación de las regiones B1 y B2. De preferencia se emplea sin embargo un detector especial el cual se adapta a la zona de radiación empleada para la región A.

La figura 7 muestra el transcurso de la señal con el tiempo, obtenida mediante la evaluación de la región A. Como punto 0 del tiempo se toma el momento de entrega del líquido sanguíneo en la rendija capilar. Durante el período de tiempo I, no se mide en la región A para todas las curvas ninguna disminución de la remisión digna de mención. En la región II puede comprobarse una disminución de la remisión para las curvas K1, K2 y K3 (concentración de glucosa: K1:25 mg/dl; K2:250 mg/dl; K3:500 mg/dl), que fueron absorbidas con sangre capilar. La disminución de la remisión da a conocer que el líquido de muestra ha llegado. El aparato muestra al usuario, que puede cesar de añadir líquido de muestra, puesto que para la ejecución del ensayo analítico se dispone ya de suficiente líquido. Esto tiene para el usuario la ventaja de que opera con pequeñas cantidades de sangre y que la duración de la aplicación puede acortarse en el tiempo. En la región IV de la figura 7, puede reconocerse una disminución progresiva de la remisión, lo cual se atribuye a la formación de un colorante en la zona de detección. Esto sería también una indicación de que se dispone de suficiente muestra, debido a la formación de colorante en la zona de detección solamente posible segundos más tarde, puesto que la formación de color necesita un cierto tiempo. La ganancia de tiempo de 3 a 4 segundos representa para el usuario una ganancia muy grande en comodidad.

En la figura 7 se representa además la curva K4, la cual se obtuvo mediante una solución incolora de glucosa y una detección a 880 nm. Al contrario de las curvas K1, K2 y K3, esta curva no muestra ninguna disminución esencial de la remisión en los márgenes de tiempo II y III, sino que solamente en el margen IV cuando se produce la formación de color. Debido al comportamiento en el tiempo de la señal detectada en la región A de la zona de detección, se puede con ello diferenciar si se trata de un líquido de muestra, en particular sangre, o una solución de glucosa para el control o respectivamente calibración del aparato. Cuando el aparato reconoce que se empleó una solución de control, entonces puede efectuarse una medición y calibrarse a si mismo. Para ello puede emplearse por ejemplo un factor de corrección el cual se obtiene del cociente entre la concentración medida y la concentración verdadera de la solución de control. Valores de medición sucesivos pueden entonces corregirse automáticamente del aparato mediante la división por el factor de corrección. La verdadera concentración de la solución de control puede bajarse por ejemplo de la memoria del aparato, en particular cuando se emplea solamente una correspondiente solución de control calibrada, o cuando la concentración puede introducirse en el aparato por el usuario.

La figura 8, muestra en el detector (25; figura 2), el curso de la señal medida en diferentes posiciones del elemento de ensayo. En las abscisas de la figura está la posición relativa del elemento de ensayo, dada en milímetros.

La posición del elemento de ensayo (1) representada en la figura 3, en la cual se encuentra la rendija capilar (5) en el centro de la parte superior de la lente (22), representa el punto cero. Los valores positivos de las abscisas representan una tolerancia lateral del elemento de ensayo transversalmente a la ranura capilar. La figura 8 muestra como se comporta la señal medida cuando el elemento de ensayo no está posicionado en el centro o/y la ranura capilar no está colocada en el centro del elemento de ensayo debido a la producción.

Sobre las coordenadas se colocan las señales medidas en el detector en unidades arbitrarias. Debido a la geometría de medición escogida y representada en las figuras 2 y 3, se detecta la radiación reflejada difusa del elemento de ensayo.

El curso de la señal representado en la figura 8 muestra que las señales están próximas al máximo al punto cero. Esto explica que las mediciones se efectúen en un papel reactivo de color blanco (6) sin adición de la muestra. En la zona del papel reactivo, debajo del cual se encuentra la ranura capilar, y que después de la adición de la muestra, sirve como auténtica región de medición, la remisión antes de la adición de la muestra, es máxima.

## ES 2 322 304 T3

Fuera de esta zona, las remisiones son algo más pequeñas, aunque todavía se obtiene remisión del papel reactivo. La razón de ello es que el papel reactivo en esta región está adherido por detrás con una lámina coloreada.

5 La curva 50, que está formada por los puntos de medición, que están representados por cuadrados, muestra el curso de la señal, cuando la fuente de luz (23) está activada. La curva 60 que está formada por los puntos de medición que están representados como rombos, muestra el curso de la señal en elementos de ensayo desviados, cuando la fuente de luz (23') está activada.

10 A partir de la figura 8 se deduce, que en la región aproximadamente de 0 a + 1 mm, se puede efectuar una medición con la fuente de luz (23), y en la región de aproximadamente -1 a 0, se puede efectuar una medición con la fuente de luz (23'). Con ello, se logra que con la disposición en cuestión pueda captarse una tolerancia de la posición de  $\pm 1$  mm.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la evaluación fotométrica de elementos de ensayo con una zona de detección que es estable frente a las tolerancias de posicionamiento de la zona de detección, el cual consta de los siguientes pasos:

a) introducción de un elemento de ensayo en un soporte de fijación, de manera que la zona de detección del elemento de ensayo queda posicionada frente a una unidad de iluminación con por lo menos una primera y una segunda fuente de luz, en donde aparece, por lo menos en una dirección, una tolerancia de posicionamiento en la zona de detección,

b) toma de contacto de una muestra con la zona de detección, de manera que un sistema de detección que se encuentra en la zona de detección con un analito contenido en la muestra, conduce a una modificación fotométricamente detectable, de la zona de detección,

c) activación de una primera fuente de luz, para la irradiación de una primera reflexión de la zona de detección y detección de la luz reflejada por la zona de detección o por la luz transmitida por la zona de detección, para la generación de una primera señal de detección,

d) activación de una segunda fuente de luz, para la irradiación de una segunda región de la zona de detección, la cual está dispuesta frente a la primera región en dirección a la tolerancia del posicionamiento, y la detección de la luz reflejada por la zona de detección o transmitida por la zona de detección para la generación de una segunda señal de detección,

**caracterizada** por los siguientes pasos adicionales:

e) comparación de la primera y la segunda señal de detección y determinación de si la primera y/o la segunda señal de detección se obtuvieron mediante la iluminación de una región completa situada dentro de la zona de detección, y selección de la correspondiente señal de detección a partir de ambas señales,

f) determinación de la concentración de analito contenido en la muestra mediante la evaluación de la señal de detección seleccionada.

2. Procedimiento según la reivindicación 1 en el cual se selecciona la señal de detección que presenta una menor intensidad.

3. Procedimiento según la reivindicación 1, en el cual se efectúan los pasos c) y el correspondiente paso d), antes de que la zona de detección según el paso b) entre en contacto con la muestra, para producir una primera y una segunda señal de detección base en un elemento de ensayo sin utilizar y en el cual la primera y segunda señal de detección antes de la determinación de la concentración del analito en el paso f) se normalice mediante la división por la correspondiente señal de detección base.

4. Procedimiento según la reivindicación 1, en el cual la primera región irradiada por la primera fuente de luz y la segunda región irradiada por la segunda fuente de luz son esencialmente igual de grandes.

5. Procedimiento según la reivindicación 1, en el cual el elemento de ensayo es un elemento de ensayo de ranura capilar.

6. Procedimiento según la reivindicación 1, en el cual, la zona de detección tiene un ancho X y la primera y la segunda fuente de luz están colocadas de tal forma que una recta de unión entre los puntos de gravedad de las regiones irradiadas con las fuentes de luz, es esencialmente paralela a la anchura.

7. Procedimiento según la reivindicación 5 y 6, en el cual el ancho está colocado esencialmente perpendicular a la ranura capilar.

8. Procedimiento según la reivindicación 1 ó 5, en el cual la región irradiada por la primera fuente de luz y la región irradiada por la segunda fuente de luz son ovales.

9. Procedimiento según la reivindicación 1 ó 5, en el cual la región irradiada por la primera fuente de luz y la región irradiada por la segunda fuente de luz son rectángulos.

10. Procedimiento según la reivindicación 1, 8 ó 9, en el cual la primera y segunda región irradiadas, se solapan.

11. Procedimiento según la reivindicación 10, en el cual el solapado máximo es inferior a la mitad del diámetro de las regiones irradiadas.

12. Procedimiento según la reivindicación 1, en el cual la zona de detección tiene un ancho X, y una recta de unión entre la primera y la segunda región irradiada, está colocada esencialmente paralela al ancho, la región irradiada por la

## ES 2 322 304 T3

primera fuente de luz tiene un ancho  $d_1$  y la región irradiada por la segunda fuente de luz tiene un ancho  $d_2$ , así como las regiones irradiadas en la dirección de la recta de unión se solapan en dirección de la recta de unión con un ancho máximo "a", en donde se cumple:

5 
$$d_1 + d_2 - a < X.$$

13. Procedimiento según la reivindicación 12, en el cual se cumple además:

10 
$$a < (d_1 + d_2)/2.$$

14. Procedimiento según la reivindicación 1, en el cual la unidad de iluminación tiene por lo menos otra fuente de luz, con la cual se irradia una tercera región y se detecta una modificación de la irradiación reflejada o transmitida por la tercera región, para reconocer la presencia de muestra.

15 15. Procedimiento según la reivindicación 14, en la cual por lo menos una radiación de la otra fuente de luz, en por lo menos una de las dos fuentes de luz diferentes, emite un segundo margen de longitud de onda, y una detección de la radiación transmitida o reflejada para el reconocimiento de la presencia de la muestra tiene lugar en este segundo margen de longitud de onda.

20 16. Procedimiento según la reivindicación 15, en el cual el segundo margen de longitud de onda en la región es de 800 a 950 nm.

25 17. Procedimiento según la reivindicación 14, en el cual la tercera región se encuentra dentro de la zona de detección.

30 18. Procedimiento según la reivindicación 17, en el cual la muestra que fluye, entra en contacto con la zona de detección, y la tercera región se encuentra corriente abajo de la primera y segunda región.

19. Dispositivo para la evaluación fotométrica de los elementos de ensayo, el cual contiene:

- una unidad de iluminación con por lo menos una primera y una segunda fuente de luz,

35 - un soporte de fijación para la recepción de un elemento de ensayo con una zona de detección, de manera que la zona de detección está posicionada frente a la unidad de iluminación,

40 - una unidad de detección con por lo menos un detector el cual detecta la luz reflejada por la zona de detección o transmitida por la zona de detección,

- una unidad de control, la cual activa la primera fuente de luz durante una primera fase de activación para la iluminación de una primera región de la zona de detección, y activa la segunda fuente de luz durante una segunda fase de activación para la iluminación de una segunda región de una zona de detección, y dicha unidad de control recibe la señal generada por la unidad de detección durante la primera fase de activación, como primera señal de detección, y la señal generada durante la segunda fase de activación, como segunda señal de detección,

**caracterizado** por las siguientes características adicionales:

50 - una unidad de evaluación la cual compara la primera y segunda señal de detección y determina si la primera y/o la segunda señal de detección se obtuvo mediante la iluminación de una región que está completamente dentro de la zona de detección y se selecciona una correspondiente señal de detección de las dos señales, y se evalúa para determinar la concentración de analito contenida en la muestra.

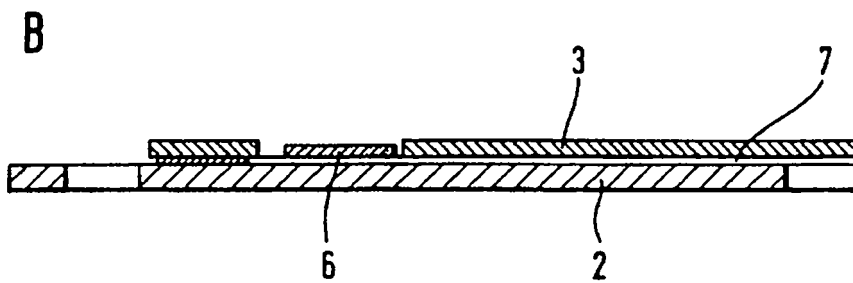
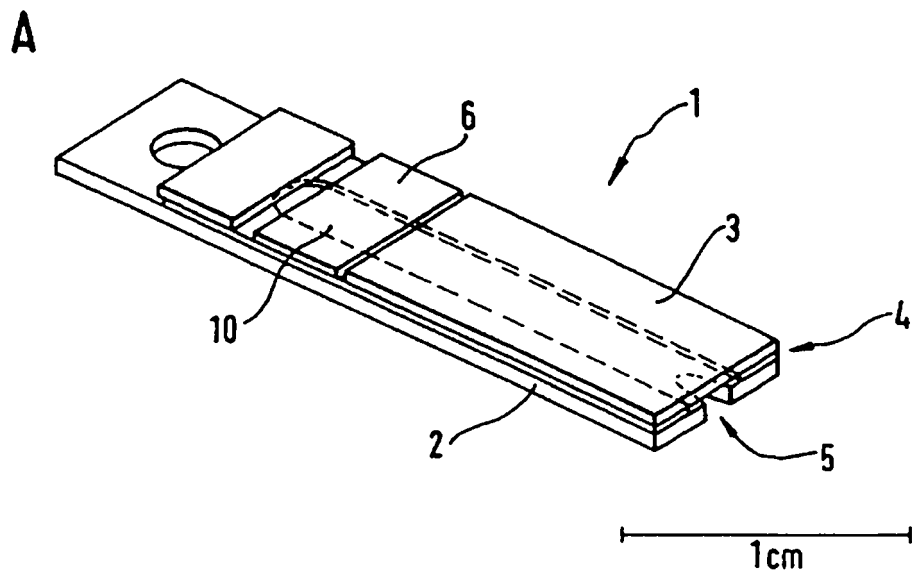
55 20. Dispositivo según la reivindicación 19, **caracterizado** porque, la unidad de iluminación posee por lo menos una tercera fuente de luz, la cual emite una radiación en un segundo margen de longitud de onda distinto por lo menos de una de las dos fuentes de luz, de manera que puede tener lugar una detección de la radiación transmitida o reflejada en este segundo margen de longitud de onda.

60 21. Dispositivo según la reivindicación 20, **caracterizado** porque, el segundo margen de longitud de onda está en el margen de 800 a 950 nm.

22. Dispositivo según la reivindicación 20, **caracterizado** porque, la tercera fuente de luz irradia una región de la zona de detección, la cual no se solapa con la primera y segunda región iluminada.

65

Fig. 1



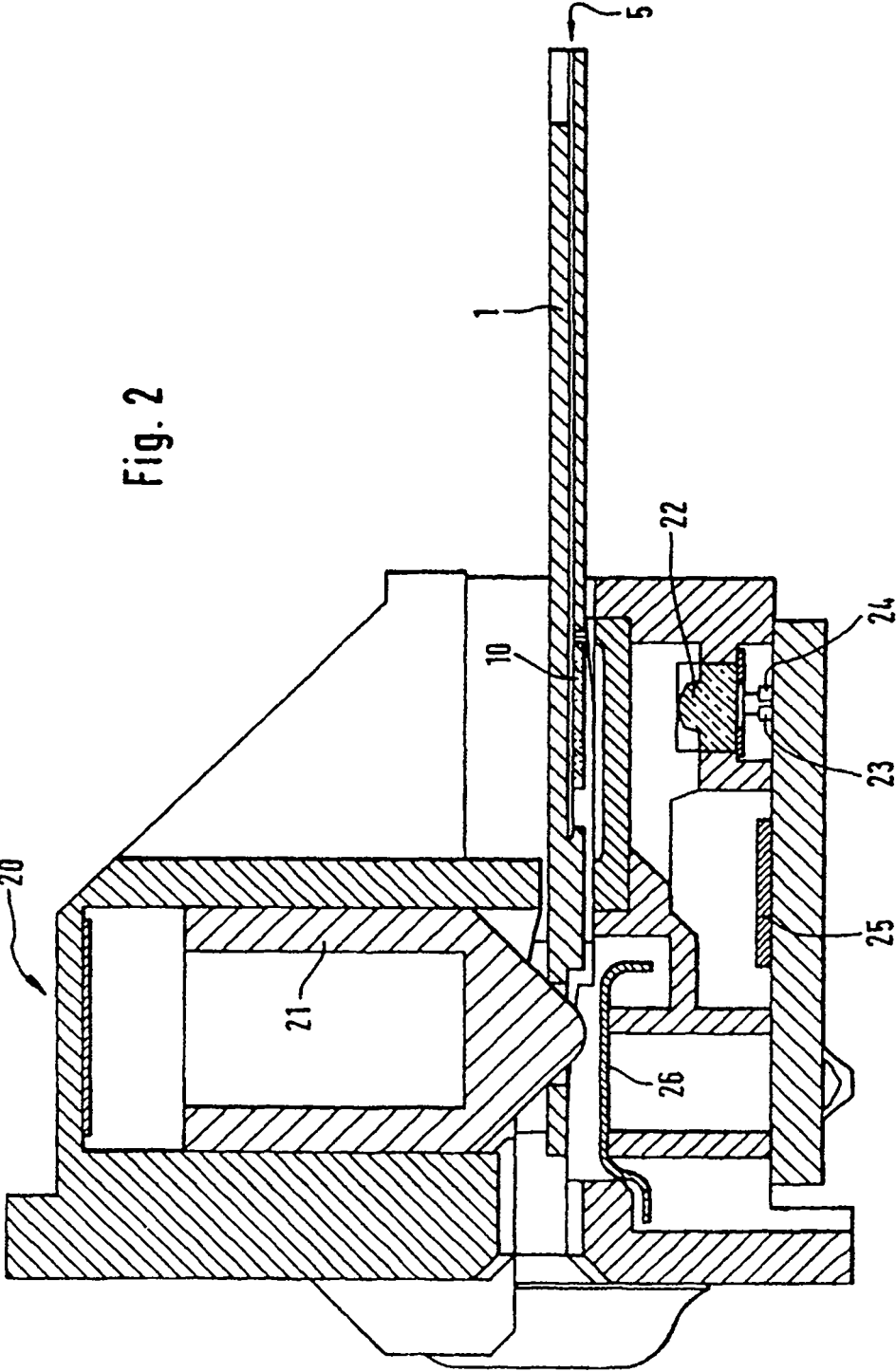


Fig. 3

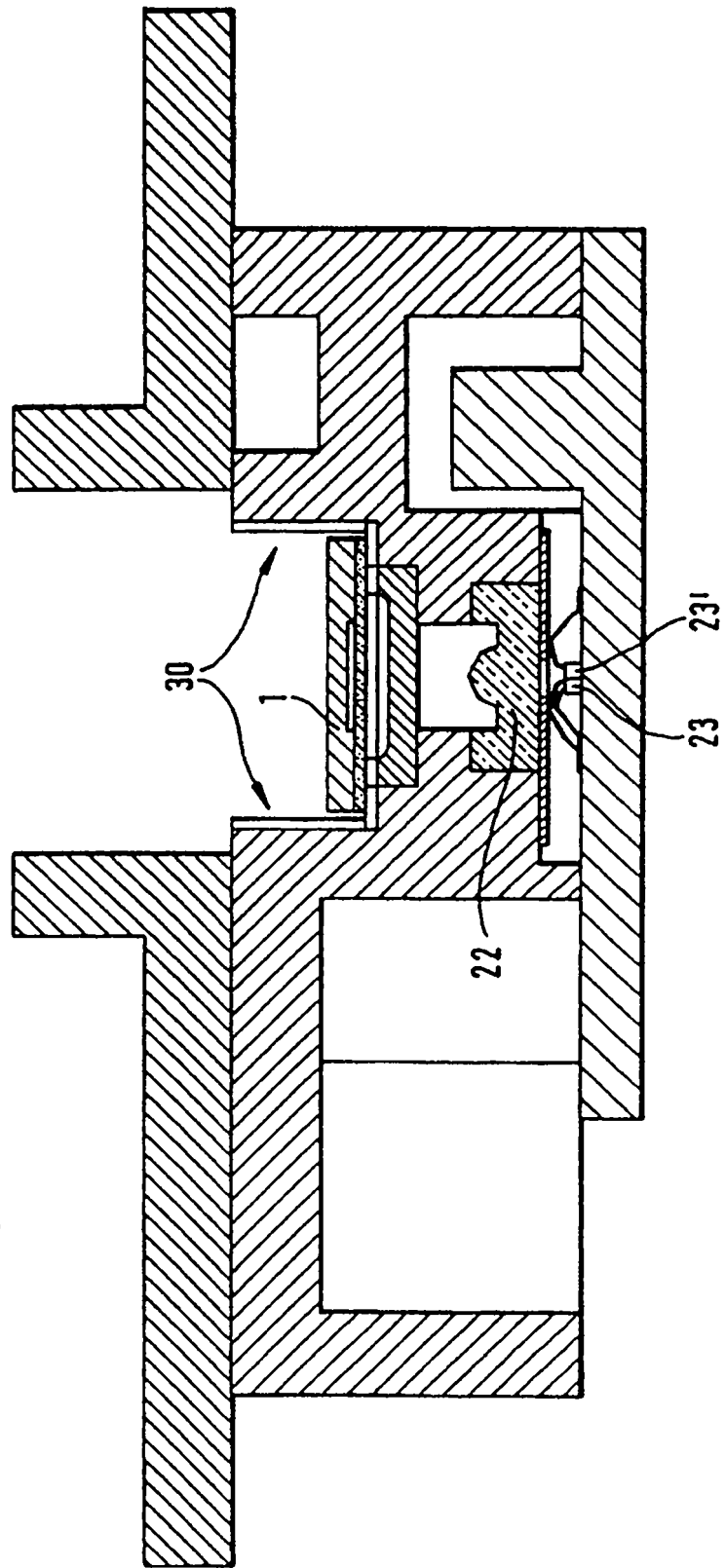


Fig. 4

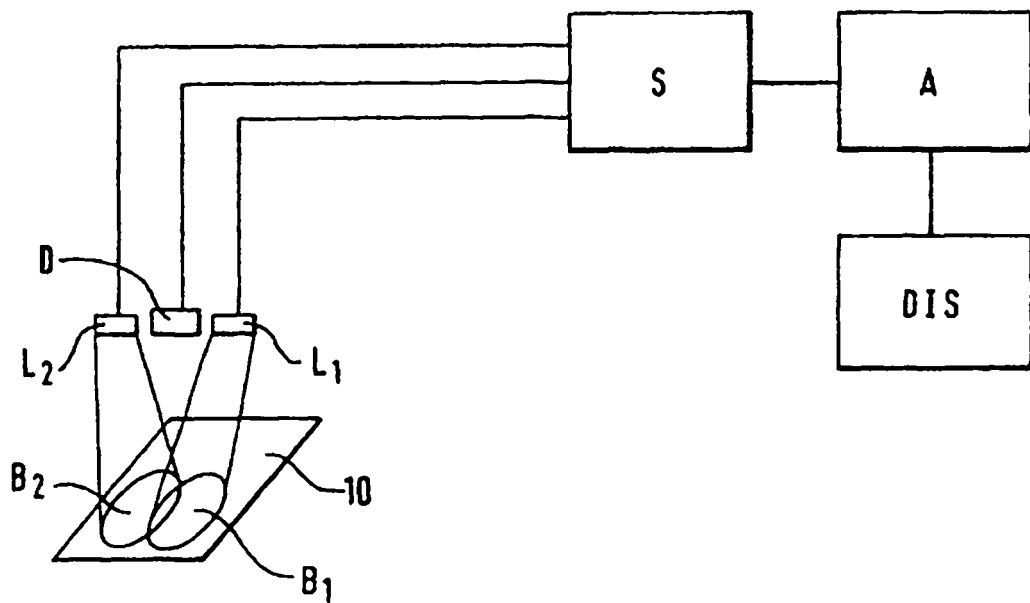


Fig. 5

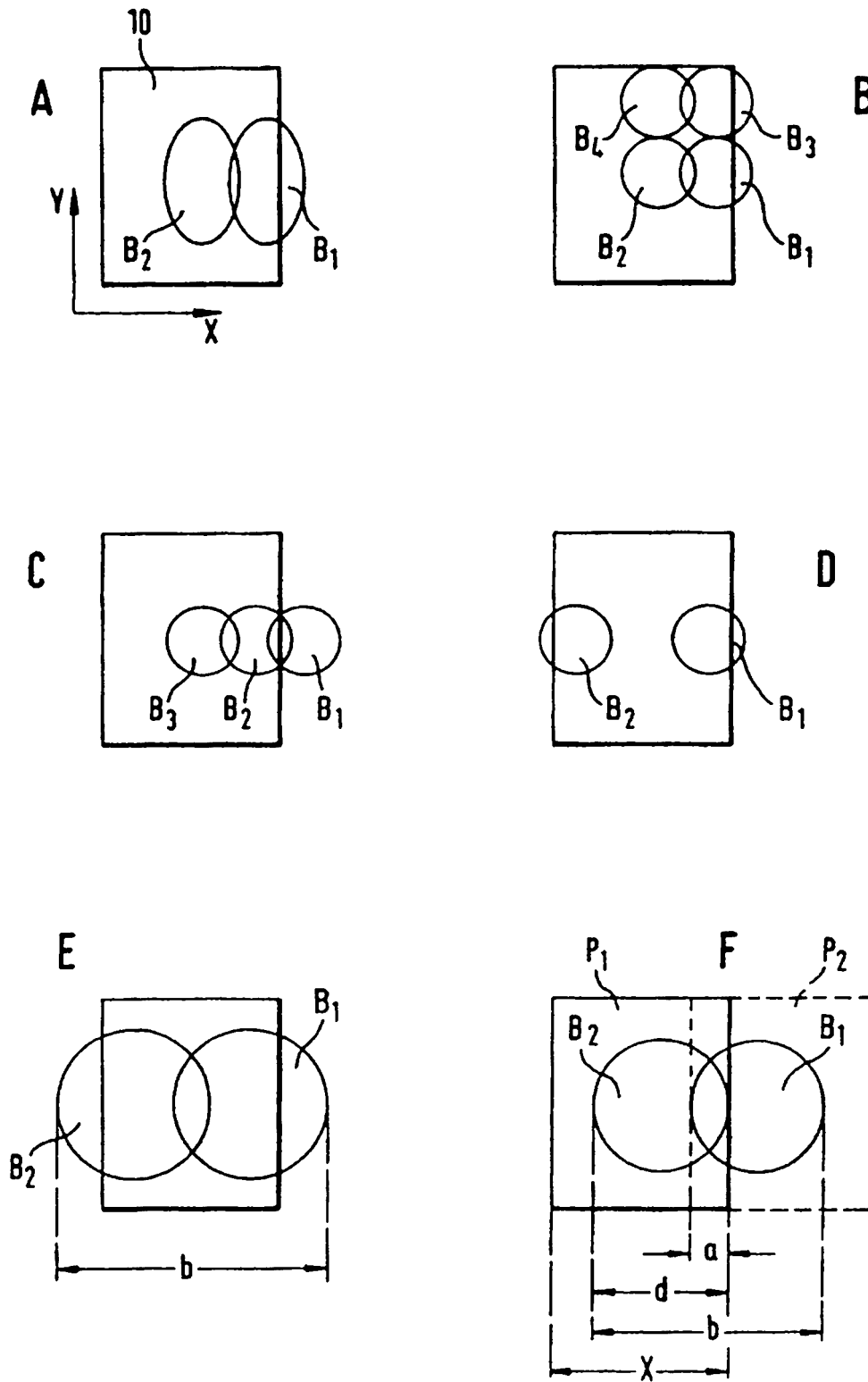
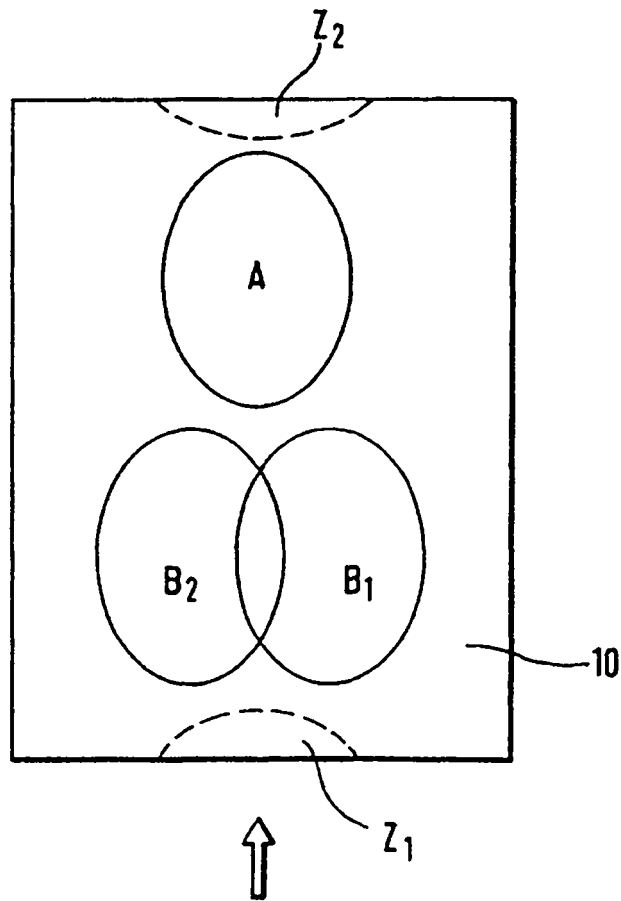


Fig. 6



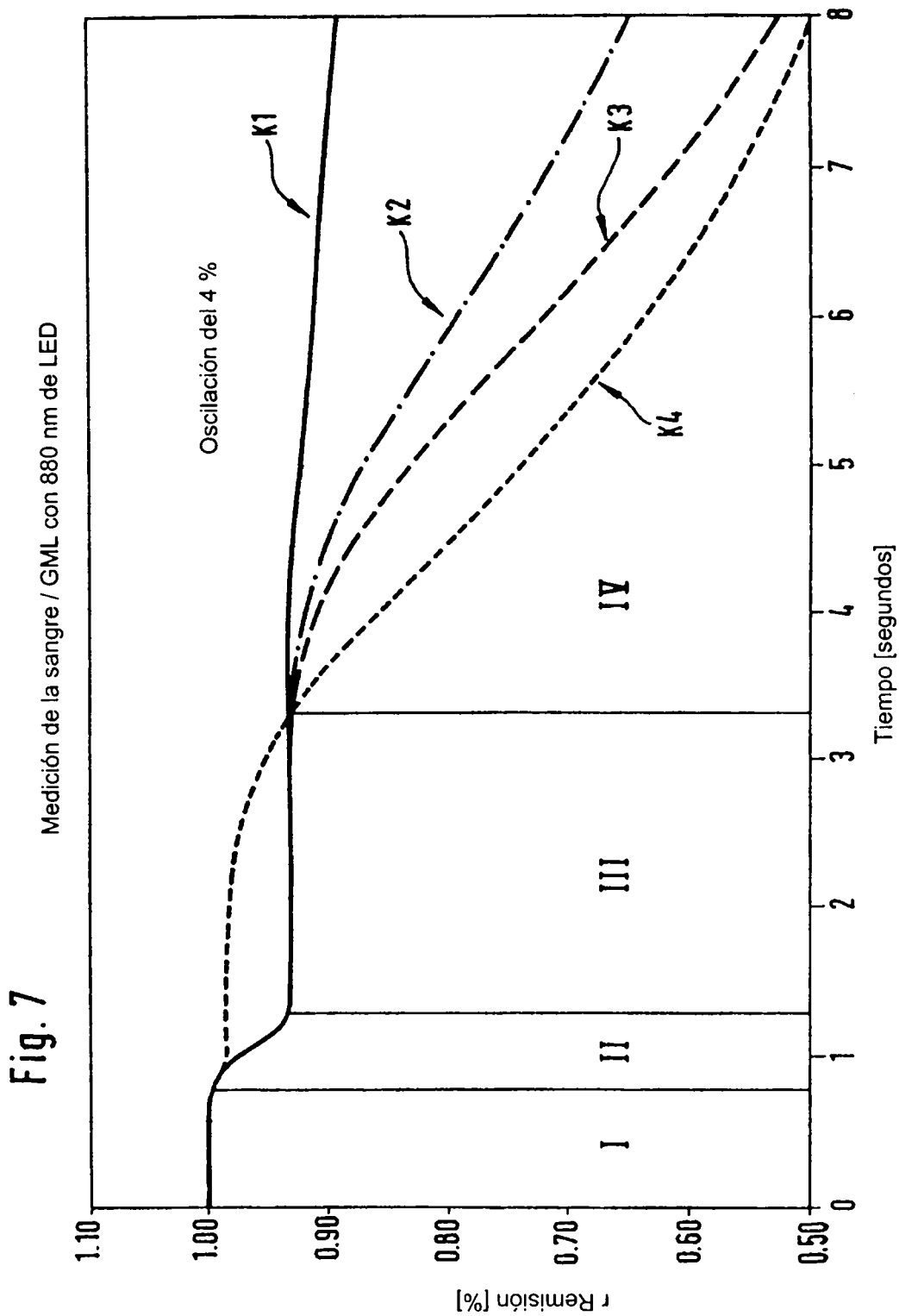


Fig 8

