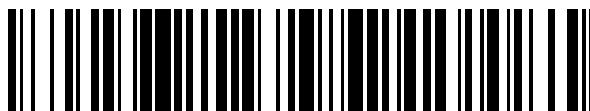


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 368 863**

51 Int. Cl.:
G01N 33/68 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06847250 .5**
96 Fecha de presentación: **23.05.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1891447**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.02.2008**

54 Título: **MÉTODOS Y DISPOSITIVOS DE ENSAYO DE FLUJO LATERAL EN DOS ETAPAS.**

30 Prioridad:
23.05.2005 US 683702 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.11.2011

73 Titular/es:
PHADIA AB
BOX 6460
751 37 UPPSALA, SE

72 Inventor/es:
RUNDSTROM, Gerd;
MATSSON, Per y
CHRISTOPHER, Paul

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

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).

ES 2 368 863 T3

DESCRIPCIÓN

Métodos y dispositivos de ensayo de flujo lateral en dos etapas.

CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención está dirigida a métodos y dispositivos de ensayo de flujo lateral en dos etapas, destinados a detectar un primer miembro de un par de unión específico en una muestra. Los métodos y dispositivos resultan particularmente ventajosos para la detección de un primer miembro de un par de unión específico en una muestra que contiene una pluralidad de miembros de pares de unión no específicos. En realizaciones específicas, los métodos y dispositivos son ventajosos a la hora de identificar anticuerpos de IgE específicos en una muestra.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 Se conocen en la técnica muchos dispositivos y métodos de ensayo de flujo lateral. Típicamente, los dispositivos y métodos permiten la aplicación de una muestra a una matriz de flujo lateral. La muestra fluye a lo largo de la matriz de flujo lateral, y uno o más componentes de analito que se han de detectar en la muestra reaccionan con al menos un reactivo que se ha proporcionado en la matriz de flujo lateral o se ha añadido a esta. Al menos un reactivo es, típicamente, inmovilizado en el dispositivo para que reaccione con el componente de analito que se ha de detectar o
15 con un reactivo del mismo, y se emplean, típicamente, etiquetas o marcadores para medir la extensión de la reacción con un reactivo inmovilizado.

- Por ejemplo, la Patente norteamericana N° 4.981.786, de Dafforn et al., divulga un dispositivo de ensayo para captar un primer miembro de un par de unión específico en una zona, y para permitir que el líquido sea transvasado por capilaridad lejos de la zona. Se añade un reactivo líquido para la realización del ensayo, por ejemplo, que
20 comprende un miembro de par de unión específico, miembros de un sistema de generación de señal, reactivos auxiliares, o similares.

- Dafforn et al. divulgan el uso específico de su dispositivo y método de ensayo para detectar la presencia de la gonadotropina coriónica humana (HCG –“human chorionic gonadotrophin”). En el documento WO 00/51988 (Heska) se divulga un método para detectar una inmunoglobulina específica de alérgeno, biológicamente activa, utilizando
25 una molécula de receptor épsilon de Fc (FcεR). El método es capaz de detectar inmunoglobulinas específicas de alérgeno, biológicamente activas, que no son detectables por un procedimiento que utiliza anticuerpos anti-IgE. La aplicación también divulga equipos para llevar a cabo tales métodos.

- En el documento US 6.365.417 (A-Fem Medical) se divulga un dispositivo para recoger líquidos orales que incluye una tira de cromatografía de flujo lateral que tiene una tableta de recogida destinada a insertarse en la boca. La
30 tableta de recogida está separada del resto de la tira de cromatografía por medio de una barrera extraíble impermeable al líquido, que evita que el líquido de la tableta de recogida entre en la tira de cromatografía. Una vez que se ha recogido el líquido oral adecuado (según se indica por un indicador o testigo de suficiencia de muestra), el dispositivo se extrae de la boca y la barrera es retirada para permitir que los líquidos orales fluyan a través de la tira. Los líquidos interactúan a través de unas formaciones o configuraciones de unión existentes en la tira, para
35 proporcionar los resultados de la prueba, tales como una indicación de que está presente en el líquido un analito de interés. La tira puede estar contenida en un alojamiento con una abertura de acceso a través de la cual puede ser manipulada la barrera extraíble, así como ventanas a través de las cuales pueden verse los resultados de la prueba. Este dispositivo impide el reflujo de reactivos desde la tira al interior de la boca de un sujeto de prueba durante su uso.

- 40 En el documento WO 02/056017 se divulga un método y una composición para detectar la presencia de anticuerpos de una clase específica que reaccionan con analitos tales como bacterias, alérgenos, antígenos autoinmunes, proteínas virales y carbohidratos, mediante técnicas de flujo lateral. En una realización de la invención, una muestra de prueba o ensayo obtenida de fluidos corporales reacciona con un antígeno marcado con oro. El complejo
45 resultante se desplaza a través de la membrana y a lo largo de la tira de flujo lateral. Unas líneas coloreadas en rojo, formadas en posiciones específicas a lo largo de la tira de ensayo, indican la presencia de anticuerpos de clase específica en el espécimen de prueba. En otra realización de la invención, el ensayo de flujo lateral sirve como prueba de clasificación o resolución inmunocromatográfica para la detección de anticuerpos de IgE específicos de alérgeno en el suero humano. La muestra de ensayo reacciona con un anticuerpo anti-IgE marcado con oro. El complejo resultante se desplaza a través de la membrana, donde unos alérgenos inmovilizados capturan el complejo
50 de IgE específico de alérgeno. Se han formado unas líneas coloreadas en las zonas de prueba que indican la presencia de anticuerpos de IgE específicos de alérgeno.

- En el documento WO 03/048998 se divulga una red sanitaria destinada a compartir información referente a la salud de un usuario con al menos una fuente del exterior, de tal manera que la red incluye un biosensor asociado con el
55 usuario, que genera una señal de biosensor que contiene la información; y unos medios de control de datos personales, que incluyen medios de recepción destinados a recibir la señal de biosensor, medios de entrada para recibir una entrada privada por parte del usuario, y medios de salida destinados a generar una señal de respuesta basándose en la señal de biosensor y en la entrada privada. La red incluye también un módulo de asignación y

tratamiento de datos, que incluye medios para recibir la señal de respuesta y medios para generar y dirigir una señal de salida a la al menos una fuente del exterior, de tal manera que el módulo es sensible a la señal de respuesta, y de modo que la disponibilidad de la información para la al menos una fuente del exterior es sensible a la entrada privada.

- 5 En el documento WO 00/07015 se divulgan dispositivos de ensayo de tira de prueba para la detección de un analito en una muestra de analito fluida en la que el efecto de gancho se minimiza y se evita sustancialmente la interferencia con reacciones de unión en el ensayo, así como métodos para el uso de los dispositivos con esos fines. A tales fines, los dispositivos separan la zona de prueba de la tira de prueba (en la que un agente aglomerante para el analito se une de forma inamovible) y la zona de trazador de la tira de prueba (en la que se une de forma movable
- 10 un trazador reconstituible) en los planos horizontal y, en algunas realizaciones, vertical. En todas las realizaciones de los dispositivos y métodos de la invención, la muestra de analito fluida aplicada a la tira de prueba entra en contacto con la zona de prueba antes de que el trazador contacte ya sea con la muestra, ya sea con la zona de prueba. El dispositivo resulta especialmente útil para la detección de analito cuya unión con agentes aglomerantes de ensayo sea especialmente sensible a las condiciones de ensayo, tales como un analito de anticuerpo.
- 15 A fin de facilitar el uso de dispositivos de ensayo de flujo lateral por el personal de laboratorio y por parte de personal médico ajeno a los laboratorios y de los usuarios, por ejemplo, en aplicaciones en "centros de salud", y para obtener técnicas de detección más rápidas, ha de ponerse especial atención en la mejora de los dispositivos y métodos de ensayo de una sola etapa. Por ejemplo, las Patentes norteamericanas de May et al. Nos. 5.602.040, 5.622.871, 5.656.503, 6.187.598 y 6.228.660 divulgan dispositivos, equipos y métodos que facilitan métodos de ensayo de flujo
- 20 lateral en una sola etapa. Se proporciona una tira de prueba con un reactivo marcado y secado que es liberado en una forma móvil por una muestra biológica líquida. El reactivo marcado se une de forma específica con el analito que se ha de detectar, para formar un complejo, y la migración de la muestra líquida a lo largo de la matriz de flujo lateral transporta el complejo por capilaridad hasta una zona de detección.
- 25 La Patente norteamericana de Hubscher et al. N° 6.528.325 divulga un dispositivo y un método más específicos para la detección de anticuerpos en el suero humano mediante el uso de un ensayo de flujo lateral que facilita técnicas de una sola etapa. Una muestra de prueba obtenida de fluidos corporales reacciona con un antígeno marcado con oro y el complejo resultante se desplaza a través de una membrana y a lo largo de una tira de flujo lateral. Las líneas de color rojo formadas en posiciones específicas a lo largo de la tira de prueba indican la presencia de anticuerpos de case específica en los especímenes de ensayo. En una realización más específica divulgada por Hubscher et al., el
- 30 ensayo de flujo lateral sirve como prueba de resolución inmunocromatográfica para la detección de anticuerpos de IgE específicos de alérgeno en el suero humano. La muestra de prueba reacciona con un anticuerpo anti-IgE marcado con oro y el complejo resultante se desplaza a través de la membrana, donde unos alérgenos inmovilizados capturan el complejo de IgE específico de alérgeno. Se forman unas líneas coloreadas en las áreas de ensayo para indicar la presencia de anticuerpos de IgE específicos de alérgeno.
- 35 La detección de alergias específicas en un individuo es importante para permitir al personal médico prescribir un tratamiento de la alergia seguro y eficaz. Técnicas comunes para la detección de alergias implican, típicamente, una prueba de pinchado de la piel con el fin de exponer a un individuo a diversos alérgenos y/o complejas y costosas pruebas de laboratorio. Debido al traumatismo, al coste y/o a la incomodidad de las técnicas que se emplean habitualmente, muchos profesionales médicos prescriben tratamientos de la alergia basándose únicamente en los
- 40 síntomas de un individuo, sin hacer pruebas para determinar qué alergias específicas puede tener el individuo. Tales prescripciones pueden, obviamente, ser peligrosas, antieconómicas y/o ineficaces, ya que es posible que se prescriban a los individuos medicinas de tratamiento que no son adecuadas para sus estados alérgicos. De acuerdo con ello, sería ventajoso utilizar técnicas de ensayo de flujo lateral para la detección de anticuerpos de IgE de un individuo para un diagnóstico preciso de la alergia en un individuo. Sin embargo, la detección de anticuerpos de IgE
- 45 específicos resulta a menudo difícil. Es decir, las muestras biológicas tales como la sangre contienen una pluralidad de miembros de unión no específicos que interfieren con las reacciones necesarias para una marcación y detección precisas de anticuerpos de IgE específicos.
- Más concretamente, la determinación de una alergia específica requiere la identificación de un anticuerpo de IgE que tiene una región variable que se une o enlace a un epítopo de alérgeno específico. Los fluidos corporales
- 50 contienen, típicamente, miles de anticuerpos de diferentes especificidades de regiones variables de IgE y, por tanto, la determinación de una alergia específica mediante ensayo requiere una reacción selectiva de un único tipo de anticuerpo a partir de miles de especificidades de anticuerpos de IgE. Los conjugados de detección se unen fácilmente a las regiones constantes de tales anticuerpos de IgE, es decir, que los conjugados de detección no diferencian, típicamente, entre diferentes especificidades de IgE, y la identificación de un anticuerpo de IgE concreto
- 55 resulta difícil utilizando técnicas de ensayo y de marcación convencionales. En la práctica, ha venido siendo difícil llevar a cabo ensayos laterales utilizando técnicas según se divulga en la técnica anterior para identificar de forma fiable IgE de un individuo para el diagnóstico de la alergia. Típicamente, un ensayo inmunológico basado en alérgenos unidos o enlazados sobre una fase sólida, que emplea un conjugado de detección que se une a la región no variable de los anticuerpos de IgE en el ensayo, será sensible a la unión no específica de IgE en el ensayo. De acuerdo con ello, existe la necesidad de dispositivos y métodos de ensayo mejorados, en particular para facilitar la
- 60 detección de anticuerpos de IgE específicos.

SUMARIO DE LA INVENCION

De acuerdo con ello, es un propósito de la presente invención proporcionar dispositivos y métodos de ensayo de flujo lateral mejorados. Es un propósito asociado proporcionar dispositivos y métodos de ensayo de flujo lateral que sean ventajosos para la detección de anticuerpos de IgE específicos y que, por tanto, puedan ayudar al diagnóstico de la alergia en un individuo.

Estos propósitos y otros adicionales son aportados por la presente invención. En una realización, la invención está encaminada a un método de ensayo de flujo lateral en dos etapas para la identificación de anticuerpos de IgE en una muestra. El método comprende aplicar una muestra, por ejemplo, sangre completa o suero, a un acceso o puerta para muestra, perteneciente a un dispositivo que está configurado para suministrar la muestra a una matriz de flujo lateral que tiene una pluralidad de especies de antígeno de IgE inmovilizadas en posiciones respectivas en una primera ubicación. El dispositivo está configurado, opcionalmente, para filtrar la muestra con el fin de suministrar una muestra filtrada, por ejemplo, sustancialmente carente de células de glóbulos rojos, a la matriz de flujo. El método comprende, adicionalmente, permitir que la muestra se desplace a lo largo de la matriz de flujo lateral, a través de la pluralidad inmovilizada de especies de antígeno de IgE, hasta una segunda ubicación situada aguas abajo con respecto a la primera ubicación, aplicar una solución amortiguadora o tampón líquida a la matriz de flujo lateral para inmovilizar un reactivo marcado que está configurado para unirse al anticuerpo de IgE y que se seca sobre la matriz de flujo lateral en una ubicación situada aguas arriba con respecto al suministro de la muestra a la matriz de flujo lateral, y permitir que el reactivo marcado, movilizado por la solución amortiguadora líquida, se desplace a lo largo de la matriz de flujo lateral, a través de la pluralidad inmovilizada de especies de antígeno de IgE, hasta una ubicación situada aguas abajo con respecto a la primera ubicación.

La invención está encaminada, por lo demás, a un dispositivo de ensayo inmunológico de flujo lateral para identificar anticuerpos de IgE en una muestra. El dispositivo comprende un alojamiento provisto de un acceso o puerta para muestra, un acceso o puerta para solución amortiguadora, situada aguas arriba de la puerta para muestra, una ventana de resultado, situada aguas abajo de la puerta para muestra, y, opcionalmente, una ventana de control situada aguas abajo de la ventana de resultado. El dispositivo comprende, adicionalmente, un pozo para solución amortiguadora, situado aguas arriba de la puerta para muestra y configurado para recibir una cierta cantidad de solución amortiguadora líquida aplicada a través de la puerta para solución amortiguadora, un camino o recorrido de flujo lateral situado dentro del alojamiento y que se extiende desde el pozo para solución amortiguadora hasta una posición situada aguas abajo, por ejemplo, la ventana de control, si es que se incluye, y que comprende una matriz de flujo lateral, un reactivo marcado configurado para enlazarse o unirse al anticuerpo de IgE, dispuesto en la matriz de flujo lateral, aguas abajo del pozo para solución amortiguadora y aguas arriba de la puerta para muestra, de tal manera que el agente marcado está configurado para ser movilizado dentro de la matriz de flujo lateral por la solución amortiguadora líquida que pasa desde el pozo para solución amortiguadora, a lo largo de la matriz de flujo lateral, y una pluralidad de especies de antígeno de IgE, inmovilizadas en posiciones respectivas de la matriz de flujo lateral, en una primera posición visible a través de la ventana de resultado. El dispositivo puede, opcionalmente, comprender, de manera adicional, anticuerpo de IgE o antirratón no marcado, inmovilizado en la matriz de flujo lateral, en una segunda ubicación separada de, y situada aguas abajo con respecto a, la primera ubicación, y visible a través de la ventana de control, si es que esta se incluye en el alojamiento.

En una realización alternativa, el dispositivo comprende un alojamiento provisto de al menos un acceso o puerta para muestra, al menos un acceso o puerta para solución amortiguadora, situada aguas arriba de la puerta para muestra, al menos una ventana de resultado, situada aguas abajo de la puerta para muestra, y, opcionalmente, al menos una ventana de control, dispuesta aguas abajo de la ventana de resultado, un pozo para solución amortiguadora, situado aguas arriba de la lumbrera para muestra y configurado para recibir una cierta cantidad de solución amortiguadora líquida aplicada a través de la puerta para solución amortiguadora, y al menos dos caminos o recorridos de flujo lateral dentro del alojamiento, cada uno de los cuales se extiende desde el pozo para solución amortiguadora hasta una posición de aguas abajo, por ejemplo, al menos una de las ventanas de control, en caso de haberse incluido, y que comprende una matriz de flujo lateral. El dispositivo comprende, adicionalmente, un reactivo marcado y secado, configurado para enlazarse o unirse con un anticuerpo de IgE, dispuesto en cada matriz de flujo lateral, aguas abajo del pozo para solución amortiguadora y aguas arriba de la puerta para muestra, de tal manera que el reactivo marcado está configurado para ser movilizado dentro de la matriz de flujo lateral, por la solución amortiguadora líquida que pasa del pozo para solución amortiguadora a lo largo de la matriz de flujo lateral, así como una pluralidad de especies de antígeno de IgE, inmovilizadas en posiciones respectivas de cada matriz de flujo lateral, en una primera ubicación visible a través de al menos una de las ventanas de resultados. El dispositivo puede incluir, opcionalmente, anticuerpo de IgE o antirratón no marcado, inmovilizado en cada matriz de flujo lateral, en una segunda ubicación separada de, y situada aguas abajo con respecto a, la primera ubicación, y visible a través de al menos una de las ventanas de control, si es que se incluyen en el alojamiento.

En aún otras realizaciones adicionales, la presente invención está dirigida a dispositivos y métodos de ensayo de flujo lateral, destinados a detectar un primer miembro de un par de enlace o unión específico en una muestra que comprende una pluralidad de miembros de pares de unión no específicos. El dispositivo comprende un alojamiento provisto de un acceso o puerta para muestra, una puerta para solución amortiguadora, situada aguas arriba de la puerta para muestra, al menos una ventana de resultado, situada aguas abajo de la puerta para muestra, y,

opcionalmente, al menos una ventana de control, dispuesta aguas abajo de la ventana de resultado, un pozo para solución amortiguadora, situado aguas arriba de la puerta para muestra y configurado para recibir una cierta cantidad de solución amortiguadora líquida aplicada a través de la puerta para solución amortiguadora, y al menos dos caminos o recorridos de flujo lateral dentro del alojamiento, cada uno de los cuales se extiende desde el pozo para solución amortiguadora hasta una posición de aguas abajo, por ejemplo, al menos una de las ventanas de control, y que comprende una matriz de flujo lateral. El dispositivo comprende, de manera adicional, un reactivo marcado y secado, capaz de enlazarse o unirse con el primer miembro del par de unión específico, de tal manera que el reactivo marcado está dispuesto en cada matriz de flujo lateral, aguas abajo del pozo para solución amortiguadora y aguas arriba de la puerta para muestra, de modo que el reactivo marcado está configurado para ser movilizado dentro de la matriz de flujo lateral por una solución amortiguadora líquida que pasa desde el pozo para solución amortiguadora, a lo largo de la matriz de flujo lateral, y un segundo miembro del par de enlace o unión específico, inmovilizado en cada matriz de flujo lateral, en una primera ubicación visible a través de al menos una de las ventanas de resultado. El dispositivo puede, opcionalmente, incluir una cierta cantidad del primer miembro del par de unión específico, no marcado e inmovilizado en cada matriz de flujo lateral, en una segunda ubicación separada de, y situada aguas abajo con respecto a, la primera ubicación, y visible a través de al menos una de las ventanas de control.

En otra realización, un método de ensayo de flujo lateral en dos etapas de acuerdo con la invención, para detectar un primer miembro de un par de unión específico en una muestra que comprende una pluralidad de miembros de pares de unión no específicos, comprende aplicar la muestra a una matriz de flujo lateral que tiene un segundo miembro del par de unión específico inmovilizado en una primera ubicación, permitir a la muestra desplazarse a lo largo de la matriz de flujo lateral, a través del segundo miembro inmovilizado del par de unión específico, hasta una segunda ubicación situada aguas abajo de la primera ubicación, aplicar una solución amortiguadora líquida a la matriz de flujo lateral para inmovilizar el reactivo marcado y secado en la matriz de flujo lateral, en una ubicación situada aguas arriba del suministro de la muestra a la matriz de flujo lateral, de tal manera que el reactivo marcado es capaz de enlazarse o unirse con el primer miembro del par de unión específico, y permitir que el reactivo marcado movilizado por la solución amortiguadora líquida se desplace a lo largo de la matriz de flujo lateral, a través del segundo miembro inmovilizado del par de unión específico, hasta una ubicación situada aguas abajo de la primera ubicación. La invención está también dirigida a un dispositivo de ensayo de flujo lateral para llevar a cabo dicho método.

Los dispositivos y métodos de la presente invención resultan ventajosos en muchos aspectos. Por ejemplo, como la muestra se pone en contacto con el reactivo inmovilizado antes de que entre en contacto con el reactivo marcado, el reactivo marcado no interfiere con las reacciones entre el analito de muestra y el reactivo inmovilizado. Se ha encontrado, sorprendentemente, que esto es de especial importancia cuando el analito de muestra comprende una pluralidad de miembros de pares de unión no específicos, por ejemplo, cuando la muestra comprende anticuerpos de IgE y se desea la detección de tipos de anticuerpo de IgE individuales. De forma inesperada, los presentes métodos y dispositivos proporcionan una detección de IgE significativamente mejorada. Adicionalmente, los dispositivos y métodos permiten una detección cómoda y eficaz de una pluralidad de analitos en una muestra utilizando un único dispositivo, y los dispositivos y métodos de la invención pueden ser utilizados fácilmente y con precisión por parte de personal médico para permitir ensayos en centros de salud.

Estos y otros propósitos y ventajas adicionales se harán evidentes de forma completa a la vista de la siguiente descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La siguiente descripción detallada se comprenderá de forma más completa a la vista de los dibujos, en los cuales:

La Figura 1 es una vista en planta superior y esquemática de un alojamiento de un dispositivo de acuerdo con la presente invención, que contiene dos matrices de flujo lateral;

La Figura 2 es una vista en planta superior y esquemática de una matriz de flujo lateral perteneciente a un dispositivo de acuerdo con la Figura 1, en combinación con un sistema de separación de sangre de otra realización de acuerdo con la presente invención;

La Figura 3 es una vista en corte transversal tomado a lo largo de la línea 3-3 de la Figura 2;

La Figura 4 es una vista lateral esquemática en despiece de un dispositivo de acuerdo con la presente invención;

La Figura 5 es una vista en corte transversal tomado a lo largo de la línea 5-5 de la Figura 4, del dispositivo de acuerdo con la presente invención, en una forma ensamblada;

La Figura 6 es una vista en planta superior y esquemática de un alojamiento de otra realización de un dispositivo de acuerdo con la invención, que contiene una sola matriz de flujo lateral;

La Figura 7 es una vista en planta superior y esquemática de una matriz de flujo lateral del dispositivo de la Figura 6,

de acuerdo con la invención, que contiene una sola matriz de flujo lateral; y

La Figura 8 es una vista lateral y esquemática de la matriz de flujo lateral del dispositivo de la Figura 7.

Las realizaciones expuestas en los dibujos son de naturaleza ilustrativa y no se pretende que sean limitativas de la invención definida en las reivindicaciones. Además, las características individuales de los dibujos y de la invención se pondrán de manifiesto y comprenderán de una forma más evidente a la vista de la descripción detallada.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención está encaminada a dispositivos y métodos de ensayo de flujo lateral en dos etapas. Los métodos y dispositivos son particularmente adecuados para llevar a cabo ensayos inmunológicos con el fin de determinar, cualitativa o cuantitativamente, si una muestra contiene un primer miembro de un par de enlace o unión específico. Si bien los dispositivos y métodos específicos que se describen en la presente memoria están indicados como útiles y ventajosos a la hora de identificar anticuerpos de IgE en una muestra, por ejemplo, sangre completa o un componente de la sangre, se encuentra igualmente dentro del ámbito de los dispositivos y métodos de la invención destinados a ser utilizados para detectar otros analitos en diversas muestras de fluidos biológicos, incluyendo plasma, suero, orina, saliva o fluidos similares. Ejemplos de otros analitos que pueden ser detectados de acuerdo con los presentes dispositivos y métodos incluyen diversas proteínas, incluyendo, aunque sin limitarse a estas, proteínas que tienen funciones biológicas concretas, tales como anticuerpos y otras proteínas encontradas en el plasma humano, proteínas relacionadas con microorganismos específicos, particularmente microorganismos que causan enfermedades, hormonas proteicas y similares, si bien no se limitan a estas.

En una realización, el dispositivo de la presente invención comprende un alojamiento provisto de un acceso o puerta para muestra, un acceso o puerta para solución amortiguadora, situada aguas arriba de la puerta para muestra, una ventana de resultado, dispuesta aguas abajo de la puerta para muestra, y, opcionalmente, una ventana de control, situada aguas de la ventana de resultado, un pozo para solución amortiguadora, situado aguas arriba de la puerta para muestra y configurado para recibir una cierta cantidad de solución amortiguadora líquida, aplicada a través de la puerta para solución amortiguadora, y un camino o recorrido de flujo lateral dentro del alojamiento, que se extiende desde el pozo para solución amortiguadora hasta una ubicación de aguas abajo, por ejemplo, la ventana de control, y que comprende una matriz de flujo lateral. El dispositivo comprende, adicionalmente, un reactivo secado y marcado, por ejemplo, un anticuerpo anti-IgE marcado, capaz de unirse con el primer miembro del par de unión específico, por ejemplo, anticuerpos de IgE, de tal manera que el reactivo marcado está dispuesto en la matriz de flujo lateral, aguas abajo del pozo para solución amortiguadora y aguas arriba de la puerta para muestra, de modo que el reactivo marcado está configurado para ser movilizado en la matriz de flujo lateral por el paso de la solución amortiguadora líquida desde el pozo de solución amortiguadora, a lo largo de la matriz de flujo lateral, y un segundo miembro del par de unión específico, por ejemplo, una pluralidad de antígenos de IgE, inmovilizado en la matriz de flujo lateral, en una primera ubicación que es visible a través de la ventana de resultado. El dispositivo puede incluir, opcionalmente, una cierta cantidad de reactivo no marcado capaz de unirse con el reactivo marcado, convenientemente el primer miembro no marcado del par de unión específico, por ejemplo, un anticuerpo de IgE no marcado, inmovilizado en la matriz de flujo lateral, en una segunda ubicación separada y situada aguas abajo de la primera ubicación, y visible a través de la ventana de control, si es que se ha incluido.

En una realización específica, el dispositivo comprende una pluralidad de especies de antígeno de IgE inmovilizadas en posiciones respectivas en la matriz de flujo lateral, en la primera ubicación, y proporciona un ensayo en centro de salud destinado a la detección de anticuerpos de IgE, contra un abanico de potenciales alérgenos de IgE, a partir de una muestra de sangre. La muestra de sangre puede comprender sangre entera o bien un componente separado de la sangre, por ejemplo, suero o plasma.

La Figura 1 muestra una vista en planta superior y esquemática de un alojamiento de un dispositivo 10 de acuerdo con una realización de la invención. El alojamiento puede estar hecho de cualquier material adecuado, un ejemplo del cual comprende plástico moldeado, y es, de preferencia, o suficientemente rígido como para proporcionar soporte y estabilidad al recorrido o recorridos de flujo lateral alojados en su interior. Se ha proporcionado un único acceso o puerta para muestra de forma oval 12 en la parte superior 13 del alojamiento, conjuntamente con un único acceso o puerta para solución amortiguadora de forma oval 14, aguas arriba de la puerta 12 para muestra. Si bien pueden proporcionarse puertas para muestra y/o solución amortiguadora adicionales, se prefiere que el alojamiento incluya tan solo una de cada con el fin de facilitar un uso fácil y cómodo del dispositivo. En la realización de la Figura 1, se han proporcionado dos ventanas de resultado 16 y 18 en la parte superior 13 del alojamiento, aguas abajo de la puerta 12 para muestra y sobre zonas de detección respectivas 20 y 22, situadas en respectivos caminos o recorridos de flujo lateral, y se han proporcionado dos ventanas de control 24 y 26 en la parte superior 13 del alojamiento, aguas abajo de las ventanas de resultado 16 y 18 y sobre respectivas zonas de control 28 y 30 situadas en respectivos recorridos de flujo lateral. Las ventanas de resultado 16 y 18 y las ventanas de control 24 y 26 pueden estar compuestas simplemente por unas aberturas existentes en la parte superior del alojamiento o, alternativamente, puede proporcionarse una cubierta transparente en una o más de las aberturas. Aunque el dispositivo que se muestra en la Figura 1 comprende dos ventanas de resultado y dos ventanas de control, ha de comprenderse que pueden emplearse una única ventana de resultados y/o una única ventana de control, o bien,

alternativamente, pueden proporcionarse ventanas de resultado y/o ventanas de control adicionales, según se desee. En la realización de la Figura 1, un recorrido de flujo lateral está asociado con una ventana de resultado y una ventana de control, si bien no es necesaria tal correspondencia unívoca, o de uno o a uno. Se encuentra igualmente dentro del ámbito de la presente invención la omisión de las ventanas de control 24 y 26 del alojamiento y la omisión de las zonas de control 28 y 30 de los respectivos recorridos de flujo lateral, si es que no se desea proporcionar una señal de control visual en el dispositivo.

La parte superior 13 del alojamiento según se ha descrito, se ajusta conjuntamente con una parte inferior o fondo del alojamiento para encerrar en su interior dos recorridos de flujo lateral. Como se ha expuesto en lo anterior, el dispositivo puede comprender, alternativamente, un único recorrido de flujo, o bien tres o más recorridos de flujo lateral, según se desee. La Figura 2 expone una vista en planta superior de los dos recorridos de flujo lateral contenidos dentro del alojamiento del dispositivo, en combinación con un sistema de separación de sangre. La Figura 3 se ha tomado a lo largo de la línea 3-3 de la Figura 2 y muestra la combinación con más detalle. Con referencia a las Figuras 2 y 3, los recorridos de flujo lateral 32 y 34 incluyen porciones de aguas arriba 32a y 34a que se encuentran aguas arriba con respecto al sistema 36 de separación de sangre, y porciones de aguas abajo 32b y 34b que se encuentran aguas abajo con respecto al sistema 36 de separación de sangre.

El sistema 36 de separación de sangre está configurado para situarse por debajo de la puerta 12 para muestra, en la parte superior del alojamiento, y para extenderse entre la puerta para muestra y los recorridos de flujo lateral. El sistema de separación de sangre puede incluir al menos una capa de material configurado para agregar o conglomerar células de glóbulos rojos en su seno, de tal manera que la muestra que pasa a los recorridos de flujo lateral es sustancialmente carente de células de glóbulos rojos. El sistema 36 de separación de sangre comprende una capa superior de papel de filtro de fibra de vidrio 38, una capa intermedia de papel de filtro de fibra de vidrio 40, y una capa de fondo de papel de filtro de fibra de vidrio 42. Al menos una y, preferiblemente, las dos capas, superior e intermedia, de papel de filtro 38 y 40 contienen un agente conglomerante en su seno. Se conocen en la técnica numerosos agentes conglomerantes que resultan adecuados para ser utilizados aquí. Por ejemplo, el agente conglomerante puede comprender un azúcar tal como el manitol, el sorbitol o el inositol, o uno o más anticuerpos de unión de células de glóbulos rojos, lecitinas o similares, si bien no está limitado por estos. En el dispositivo de ensayo de flujo lateral ensamblado, las capas 38 y 40 están se disponen bajo la puerta 12 para muestra y son lo suficientemente grandes para recibir una muestra desde la puerta para muestra, pero no se extienden lateralmente hasta los recorridos de flujo lateral 32 y 34. La capa de fondo 42 se ha dispuesto por debajo de la capa 40 y se extiende lateralmente hasta contactar con cada una de las dos tiras de flujo lateral. La capa de papel de filtro de fondo 42 puede también comprender un agente conglomerante de células de glóbulos rojos si se desea. Esta capa puede también contener uno o más aditivos con el fin de facilitar el flujo de la muestra filtrada recibida desde las capas 38 y 40, a los recorridos de flujo lateral 32 y 34. Por ejemplo, en una realización, la capa 42 comprende alcohol de polivinilo unido a las fibras de vidrio. A fin de facilitar el flujo a lo largo de la matriz de flujo lateral en la dirección aguas abajo, el contacto entre la capa de fondo 42 y los recorridos de flujo lateral se limita en el lado de aguas arriba por la disposición de unas delgadas capas 44 y 46 impermeables al líquido entre la capa 42 y los recorridos de flujo lateral 32 y 34, respectivamente. Por ejemplo, las capas 44 y 46 pueden estar hechas de una cinta de estratificación o similar. El borde de aguas abajo de cada una de las capas 44 y 46 se ha mostrado por una línea discontinua 48 en la Figura 2, que ilustra el área situada aguas abajo de los bordes 48, en que la capa 42 contacta con los recorridos de flujo lateral 32 y 34.

El sistema 36 de separación de sangre puede incluirse en el dispositivo de la invención cuando sea deseable utilizar una muestra que, deseablemente, se filtre para eliminar componentes que puedan interferir con una señal visual, es decir, una muestra de sangre completa o entera de la que se hayan eliminado, deseablemente, las células de glóbulos rojos. Por otra parte, el sistema de separación de sangre puede ser omitido en el caso de que la muestra en cuestión no requiera la filtración de ningún componente de la misma, es decir, sea una muestra de suero. Pueden incluirse, alternativamente, otros sistemas de separación de sangre o de muestra en los dispositivos de la invención, según se desee.

La Figura 4 muestra una vista lateral expandida o en despiece de un dispositivo de acuerdo con la invención, en tanto que la Figura 5 muestra una vista en corte transversal del dispositivo, tomado a lo largo de la línea 5-5, una vez que el dispositivo se ha ensamblado dentro del alojamiento del dispositivo. Haciendo referencia a la Figura 4, se pasa a describir el recorrido de flujo lateral 32. Sin embargo, el recorrido de flujo lateral 34 incluye características similares a las descritas con respecto al recorrido de flujo lateral 32, si bien el recorrido de flujo lateral 34 no se ha mostrado en la vista lateral de la Figura 4. Cada recorrido de flujo lateral del dispositivo de la realización ilustrada incluye una matriz de flujo lateral 50 que es porosa o absorbente y favorece el flujo lateral de los líquidos aplicados a ella por capilaridad. La matriz de flujo lateral 50 mostrada en la Figura 4 comprende una tira principal 52 que se extiende desde una posición aguas arriba de la puerta 12 para muestra y el sistema 36 de separación de sangre, hasta una posición situada aguas abajo de la ventana de resultado correspondiente 16, 18. La tira principal 52 puede estar hecha de cualquier material deseable en cuanto al flujo, incluyendo, si bien no está limitada a ellos, materiales celulósicos y materiales derivados de la celulosa, tales como papel de filtro, nitrocelulosa y acetato de celulosa, o un polímero, incluyendo, pero sin limitarse a, el nilón, la silicona o materiales similares. Los poros del material deben ser suficientemente grandes para permitir el flujo de la muestra a su través y un reactivo marcado que se describe con mayor detalle más adelante. Tamaños de poro adecuados se encuentran, típicamente, en el intervalo de entre

aproximadamente 0,4 micras y aproximadamente 1.000 micras, siendo adecuados en muchos casos tamaños de poros comprendidos en el intervalo entre aproximadamente 0,4 micras y aproximadamente 100 micras. En una realización específica, las tiras principales 52 están hechas de nitrocelulosa. Cada tira principal 52 está en comunicación de flujo de fluido con el sistema 36 de separación de sangre a través de una porción de la capa inferior de filtro de fibra de vidrio 42, si bien el contacto entre ellos está limitado, por ejemplo, a una capa de cinta de estratificación 44.

Cada tira principal 52 de los recorridos de flujo lateral 32 y 34 incluye, en una primera ubicación, unas zonas de detección respectivas 20 y 22 que son visibles a través de las correspondientes ventanas de resultado 16 y 18. Cada zona de detección tiene, inmovilizado sobre la misma, al menos un segundo miembro del par de unión específico para su reacción con, y la inmovilización de, el primer miembro contenido en la muestra. En una realización específica según se divulga en la presente memoria, la zona de detección de cada tira principal contiene una serie de alérgenos de IgE específicos para una serie de anticuerpos de IgE que se desea detectar. Los antígenos se aplican de manera tal, que cada tipo de antígeno es inmovilizado en una ubicación independiente dentro de la zona de detección. Pueden emplearse, según se desee, diversas combinaciones de antígenos de IgE. Por ejemplo, antígenos de IgE adecuados para su inmovilización dentro de las zonas de detección incluyen, por ejemplo, Timoty, centeno cultivado, abedul, aliso, avellano, artemisa, plátano inglés, ambrosía y/u ortiga, alérgenos del polvo, por ejemplo, *D. farinae*, *D. pteronyssinus* y/o polvo doméstico, mohos, por ejemplo, *Alternaria tenuis*, *Aspergillus fum.*, *Cladosporium* y/o *Penicillium not*, epitelio animal, por ejemplo, caspa de gato, caspa de perro, caspa de caballo y/o plumas de ganso, alimentos, por ejemplo, productos lácteos, cereales, frutos secos, mariscos y/o legumbres, mezclas de inhalación, por ejemplo, polen I (hierbas), polen II (arbustos / árboles), harina animal, harina de polvo y/o harina de mohos, y similares, si bien no están limitados por estos. Los alérgenos de IgE, u otro(s) segundo(s) miembro(s) de par de unión específico, se fijan a la tira de prueba principal en la zona de detección de cualquier manera conocida en la técnica que sea suficiente para inmovilizar el (los) miembro(s) en la matriz de flujo y mantener la inmovilización en las condiciones de ensayo.

En una realización, los alérgenos de IgE son inmovilizados en la matriz de flujo al fijarse los alérgenos respectivos a partículas que quedan, a su vez, inmovilizadas en los poros de la matriz de flujo. Tales partículas de inmovilización son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, partículas de dióxido de silicio y partículas de polímeros orgánicos tales como polímeros de adición sintéticos, polímeros de condensación sintéticos y biopolímeros, opcionalmente de enlaces cruzados sintéticamente. Las partículas son, apropiadamente, de un tamaño que puede ser recibido y mantenido dentro de los poros de la matriz de flujo. En una realización, las partículas de inmovilización tienen un diámetro más pequeño que la dimensión interna más pequeña de los canales de flujo de las matrices de flujo lateral existentes en la primera ubicación de las zonas de detección. Ejemplos de partículas adecuadas incluyen las preconizadas en la Solicitud PCT publicada, de Pharmacia Diagnostics AB, N° WO 99/36780, la cual se incorpora aquí como referencia. En una realización, las partículas inmovilizantes están hechas de látex de polímero sintético, por ejemplo, partículas de látex de homopolímero o copolímero de poliestireno, y han sido tratadas con grupos hidrófilos tales como grupos de hidroxil alcohólico, a fin de mejorar la inmovilización y la reacción de los antígenos o de otro segundo miembro de par de unión específico, como también se preconiza en la anteriormente mencionada Solicitud PCT publicada, de Pharmacia Diagnostics AB, N° WO 99/36780.

Como se muestra en la Figura 1, la superficie exterior de la parte superior 13 del alojamiento puede estar provista de indicadores 15 adyacentes a cada ventana de resultado, con el fin de distinguir las ubicaciones de las respectivas especies de antígenos de IgE que se inmovilizan en las zonas de detección respectivas. Los indicadores pueden comprender texto, gráficos, iconos o cualquier combinación de los mismos. Estos indicadores pueden ayudar entonces al personal médico a la lectura de cualesquiera resultados positivos que se presenten una vez que el dispositivo se haya empleado para llevar a cabo un ensayo.

Cada matriz de flujo lateral 50 incluye adicionalmente una mecha inferior de aguas arriba 54 que está en comunicación de flujo de fluido con el extremo de aguas arriba de la tira principal 52, y una mecha superior de aguas abajo 56 que está en comunicación de flujo de fluido con el extremo de aguas abajo de la tira principal 52. Cuando el alojamiento está provisto de ventana(s) de control, la mecha superior puede disponerse bajo la respectiva ventana de control. De esta forma, como se muestra en la Figura 4, cada mecha superior 56 está dispuesta bajo la ventana de control respectiva 24, 26. Las mechas superior e inferior 54 y 56 están hechas de cualquier material deseable con respecto al flujo, incluyendo, aunque sin limitarse a, materiales celulósicos derivados de la celulosa, tales como papel de filtro, nitrocelulosa y acetato de celulosa, nilón y materiales similares. En una realización, las mechas están hechas de papel de filtro de fibra de vidrio.

En una ubicación aguas arriba de su punto de contacto con la tira principal 52, cada mecha inferior 54 incluye un reactivo marcado y secado 58. El reactivo marcado está configurado para ser movilizado de manera que fluya a través de la matriz de flujo lateral, una vez que se ha aplicado una solución amortiguadora líquida en el dispositivo, como se describirá con mayor detalles más adelante. El reactivo marcado debe ser capaz de reaccionar con el primer miembro del par de unión específico en un lugar de unión diferente de aquél en el que reacciona el primer miembro de par de unión específico con el segundo miembro de par de unión específico inmovilizado. Adicionalmente, el reactivo marcado, bien incluye un marcador detectable a simple vista o bien es reactivo con un marcador detectable a simple vista. En una realización específica, el reactivo marcado incluye un marcador

detectable a simple vista. Tales marcadores son bien conocidos en la técnica e incluyen cromóforos, fluoróforos, compuestos radiactivos, enzimas y similares, si bien no están limitados por ellos, y puede emplearse cualquiera de tales marcadores en el reactivo marcado. El reactivo marcado puede comprender partículas con el fin de facilitar su uso de acuerdo con técnicas conocidas en el dominio tecnológico, incluyendo partículas de sol-metal. En una realización, el reactivo marcado está configurado para unirse con un anticuerpo de IgE. En una realización más específica, el reactivo marcado comprende un anticuerpo anti-IgE marcado. En una realización más específica, el reactivo marcado comprende un anticuerpo anti-IgE marcado de sol-oro, y se proporciona, por ejemplo, en la mecha inferior mediante el rociamiento de una solución de partículas de sol-oro que tienen un anticuerpo anti-IgE sobre ella, sobre el papel de filtro de fibra de vidrio, y dejando que la solución rociada se seque.

Cada mecha superior 56 puede incluir, opcionalmente, una zona de control 28, 30 situada bajo la respectiva ventana de control 24, 26. Cada zona de control está provista de un reactivo de control secado que comprende una cierta cantidad de reactivo no marcado capaz de unirse con el reactivo marcado. En una realización, el reactivo no marcado comprende el primer miembro de par de unión específico. El reactivo de control secado se inmoviliza dentro del recorrido de flujo lateral, en una segunda ubicación de la zona de control que se encuentra aguas abajo con respecto a la primera ubicación de la zona de detección y que es visible a través de al menos una ventana de control. Este primer miembro inmovilizado no está marcado y, tal y como se explicará más adelante, puede utilizarse para confirmar que el dispositivo de ensayo ha funcionado correctamente. Por ejemplo, en una realización, cada zona de control comprende un anticuerpo de IgE o antirratón no marcado e inmovilizado.

En una realización adicional, cada zona de control está inicialmente provista de al menos una marcación visible de pigmento soluble en agua, que puede verse a través de una ventana de control. La marcación visible de pigmento soluble en agua puede darse en cualquier forma, por ejemplo, una línea 17 según se muestra en la Figura 1. Como se describirá más adelante, esta marcación puede ser utilizada para confirmar que se ha aplicado adecuadamente una muestra en el dispositivo de ensayo durante su uso y como señal para completar el procedimiento de ensayo mediante la aplicación de una solución amortiguadora líquida. En una realización, la marcación con pigmento soluble en agua es de un color que es diferente de cualquier color visible del marcador de reactivo marcado, y/o la marcación con pigmento soluble en agua es de una forma que es distinta de la forma o configuración del reactivo de control aplicado en la zona de control. Como resultado de ello, un usuario será capaz de distinguir fácilmente entre la marcación con pigmento soluble en agua y cualquier marcación que aparezca subsiguientemente en la zona de control como resultado de la unión en ella de un reactivo marcado.

El extremo de aguas abajo de las mechas superiores 56 puede, opcionalmente, estar en contacto con un sumidero destinado a recoger el exceso de líquido procedente de las matrices de flujo lateral. Tal sumidero puede contribuir, de manera adicional, a favorecer el flujo lateral a lo largo de cada matriz.

Como se muestra en las Figuras 4 y 5, el dispositivo incluye, de manera adicional, un alojamiento de fondo 60 que está provisto de un pozo 62 para solución amortiguadora. El pozo 62 para solución amortiguadora se ha dispuesto bajo la puerta 14 para solución amortiguadora, con el fin de recibir una solución amortiguadora líquida aplicada al dispositivo a través de la puerta 14 para solución amortiguadora. La puerta para solución amortiguadora es de un tamaño lo suficientemente grande como para albergar una cierta cantidad de líquido de solución amortiguadora, esto es, salina, que resulta eficaz a la hora de inmovilizar el reactivo marcado y secado sobre cada mecha inferior 54 y transportar el reactivo marcado y movilizado a lo largo de cada matriz de flujo lateral, hasta la zona de control respectiva 28, 30 situada en la mecha superior respectiva 56. El pozo para solución amortiguadora se extiende lateralmente a través del dispositivo de tal manera que el extremo de aguas arriba de cada mecha inferior 54 de cada recorrido de flujo lateral estará en comunicación de flujo de fluido con la solución amortiguadora líquida situada dentro del pozo, una vez que se aplique la solución amortiguadora al dispositivo. De esta forma, una única aplicación del líquido de solución amortiguadora activará el flujo lateral en cada recorrido de flujo lateral. A fin de facilitar el flujo lateral del líquido de solución amortiguadora desde el pozo 62 para solución amortiguadora y a lo largo de cada mecha inferior 54, la pared de aguas abajo del pozo para solución amortiguadora puede estar inclinada o en pendiente, como se muestra por la referencia 64. Adicionalmente, puede haberse proporcionado una capa o soporte impermeable al líquido de manera que se extienda subyacente a la matriz de flujo lateral. Como se muestra en la Figura 4, se ha proporcionado una capa 59 impermeable al líquido bajo la porción de la mecha inferior 54 que se extiende desde el pozo 62 para solución amortiguadora, la tira principal 52 y la mecha superior 56. En una realización específica, la capa está hecha de una película plástica revestida de adhesivo que está ensamblada con el adhesivo de cara a la matriz de flujo lateral, con el fin de ayudar a mantener la matriz de flujo lateral en posición en el recorrido de flujo lateral.

Las Figuras 4 y 5 muestran también que el alojamiento puede incluir una o más barras de presión, soportes y/o espárragos de colocación para disponer las diversas capas y tiras en el alojamiento y mantenerlas en posición en el dispositivo ensamblado. Por ejemplo, la parte superior 13 del alojamiento está provista de una barra de presión 66 para mantener la porción de aguas arriba de las mechas inferiores 54 en su lugar, en el pozo para solución amortiguadora, y una barra de presión 68 para mantener los extremos de aguas abajo de las mechas inferiores 54 y los extremos de aguas arriba de las tiras principales 52 en contacto unos con otros y en su lugar en el dispositivo ensamblado. En el área del sistema 36 de separación de sangre, la parte superior 13 del alojamiento está provista de una barra de presión 70 destinada a mantener las capas 38 y 40 en posición por debajo de la puerta 12 para

muestra, y de unas barras de presión 72 a cada lado de la barra de presión 70 con el fin de mantener la capa 42 y las capas delgadas 44 en contacto con las tiras principales 52 de los recorridos de flujo lateral 32 y 34. Por otra parte, la parte superior del alojamiento incluye una barra de presión 73 para mantener los extremos de aguas abajo de las tiras principales 52 y los extremos de aguas arriba de las mechas superiores 56 en contacto unos con otros y en su lugar en el dispositivo ensamblado. En una realización, estas barras de presión pueden haberse formado integralmente con la parte superior 13 del alojamiento, por ejemplo, cuando la parte superior del alojamiento está hecha de plástico moldeado. Alternativamente, una o más de las barras de presión pueden haberse proporcionado como componentes independientes. En una realización específica, la parte superior del alojamiento está libre de toda barra de presión en el área de la ventana de resultado con el fin de impedir la aplicación de presión alguna en el área de las zonas de detección.

El fondo 60 del alojamiento puede estar provisto de una o más estructuras de soporte o de colocación. En la realización mostrada, el fondo 60 del alojamiento incluye un lecho soportado 74 que contribuye a mantener el sistema 36 de separación de sangre en posición bajo la puerta 12 para muestra y alineado con las tiras principales 52. En la región adyacente a las capas 38 y 40, el lecho de soporte 74 incluye unas bridas de aguas arriba y de aguas abajo, 76 y 78, para facilitar el flujo de la muestra hacia la capa subyacente 42 y las tiras principales 52, y/o para contribuir adicionalmente a mantener en posición el sistema de separación de sangre. Por otra parte, el fondo 60 del alojamiento incluye un espárrago de colocación de aguas arriba 80 para ayudar a la colocación del extremo de aguas arriba de las mechas inferiores 54 en el pozo para solución amortiguadora, y un espárrago de aguas abajo 82 para ayudar a la colocación del extremo de aguas abajo de las mechas superiores 56 en la región de la zona de control. Cada mecha y/o tira puede estar provista, opcionalmente, de una o más entalladuras o muescas, perforaciones u orificios para recibir un espárrago de colocación o una porción de un espárrago de colocación con el fin de contribuir, de manera adicional, al mantenimiento de la tira en su posición.

Las Figuras 6-8 están dirigidas a otra realización de un dispositivo de acuerdo con la presente invención, dispositivo que contiene una única matriz de flujo lateral. Más particularmente, el alojamiento es de una construcción similar al que se ha descrito con detalle adicional en asociación con la Figura 1, e incluye una parte superior 113 de alojamiento que está provista de una única puerta 112 para muestra, de forma oval, y de una única puerta 114 para solución amortiguadora, de forma oval, situada aguas arriba de la puerta 112 para muestra. Pueden proporcionarse puertas para muestra y/o solución amortiguadora adicionales, si bien se prefiere que el alojamiento incluya únicamente una de cada, a fin de facilitar un uso fácil y cómodo del dispositivo. La parte superior 113 del alojamiento está provista, de manera adicional, con una ventana de resultado 116 situada aguas abajo de la puerta 112 para muestra y dispuesta sobre una zona de detección 120 contenida en el recorrido de flujo lateral. El alojamiento 113 puede ser provisto, adicionalmente, de una ventana de control 124 aguas abajo de la ventana de resultado 116 y sobre una zona de control 128. Como se ha descrito anteriormente, la zona de control 128 está incluida opcionalmente en el dispositivo y, a su vez, puede estar provista, opcionalmente, de al menos una marcación visible, por ejemplo, un pigmento soluble en agua, indicado con la referencia 117 en la Figura 6, que es visible a través de la ventana de control. La marcación 117 puede ser utilizada para confirmar que una muestra se ha aplicado adecuadamente en el dispositivo de ensayo durante su uso y a modo de señal para completar el procedimiento de ensayo por la aplicación de la solución amortiguadora líquida. La ventana de resultado 116 y la ventana de control 124 puede estar compuesta por sencillas aberturas en la parte superior del alojamiento o, alternativamente, puede proporcionarse una cubierta transparente en una o ambas aberturas. La parte superior 113 del alojamiento puede también estar provista de unos indicadores 115 adyacentes a la ventana de resultado a fin de distinguir las ubicaciones de miembros respectivos de par de unión específico inmovilizados en la zona de detección, por ejemplo, para distinguir las posiciones de respectivas especies de antígenos de IgE que están inmovilizadas en la zona de detección 120.

La Figura 7 muestra una vista en planta superior y esquemática de una matriz de flujo lateral adecuada para ser utilizada en el dispositivo de la Figura 6, en tanto que la Figura 8 muestra una vista lateral y esquemática de la matriz de flujo lateral de la Figura 7. Haciendo referencia a la Figura 7, el recorrido de flujo lateral 132 incluye una porción de aguas arriba 132a que se encuentra aguas arriba con respecto a un sistema 136 de separación de sangre, y una porción de aguas abajo 132b que se encuentra aguas abajo del sistema 136 de separación de sangre. Como en la realización previamente expuesta, el sistema 136 de separación de sangre está configurado para colocarse subyacente a la puerta 112 para muestra, en la parte superior del alojamiento. El sistema de separación de sangre puede incluir cualquiera de las realizaciones anteriormente expuestas con respecto al sistema 36 de separación de sangre, o bien este puede ser omitido, si se desea. En la realización mostrada en la Figura 8, el sistema 136 comprende una capa superior de papel de filtro de fibra de vidrio 138, una capa intermedia de papel de filtro de fibra de vidrio 140, y una capa inferior de papel de filtro de fibra de vidrio 142. Una o más de las capas de papel de filtro de fibra de vidrio puede incluir un agente conglomerante para eliminar de las muestras y/o aditivos células de glóbulos rojos con el fin de facilitar el flujo de una muestra filtrada hacia el recorrido de flujo lateral 132. Para facilitar el flujo a lo largo de la matriz de flujo lateral en la dirección aguas abajo, el contacto entre la capa de fondo 142 y el recorrido de flujo lateral está limitado en el lado de aguas arriba de la capa 142 por la disposición de una delgada capa 144 impermeable al líquido entre la porción de aguas arriba de la capa 142 y el recorrido de flujo lateral 132. La capa 144 puede estar hecha de una cinta de estratificación o similar, y el borde de aguas abajo de la capa 144 se ha mostrado por una línea discontinua 148 en la Figura 7.

El recorrido de flujo lateral incluye una matriz de flujo lateral 150 que es porosa o absorbente y favorece el flujo lateral del líquido que se aplica a la misma por capilaridad. Tal y como se muestra en la Figura 8, la matriz de flujo lateral incluye una tira principal 152 que se extiende desde una posición aguas arriba de la puerta 112 para muestra y el sistema 136 de separación de sangre, hasta una posición de aguas abajo de la ventana de resultado 116. La tira principal 152 puede estar hecha de cualquier material deseable, incluyendo los que se han descrito previamente con respecto a la tira principal 52. La tira principal 152 incluye la zona de detección 120, que tiene inmovilizado en ella al menos un segundo miembro del par de unión específico para su reacción con una inmovilización del primer miembro contenido en una muestra. En una realización específica, la zona de detección de la tira principal 152 contiene una pluralidad de alérgenos de IgE específicos para una serie de anticuerpos de IgE que se desea detectar.

La matriz de flujo lateral 150 incluye, adicionalmente, una mecha inferior de aguas arriba 154 que está en comunicación de fluido con el extremo de aguas arriba de la tira principal 152, y una mecha superior de aguas abajo 156 que está en comunicación de fluido con el extremo de aguas arriba de la tira principal 152. En la Figura 7, el borde de aguas arriba de la tira de flujo principal 152 se ha mostrado con línea discontinua 153, en tanto que el borde de aguas abajo de la corriente principal 152 se ha mostrado con línea discontinua 155. En una ubicación aguas arriba de su punto de contacto con la tira principal 152, la mecha inferior de aguas arriba 154 incluye un reactivo marcado y secado 158, el cual está configurado para ser movilizado de manera que fluya a través de la matriz de flujo lateral una vez que se ha aplicado una solución amortiguadora líquida al dispositivo según se ha descrito previamente. De esta forma, el extremo de aguas arriba de la mecha superior 154 se extiende, preferiblemente, dentro de un pozo para solución amortiguadora contenido en el alojamiento de fondo del dispositivo, de una manera según se muestra en la Figura 4. La mecha superior de aguas arriba 156 está dispuesta bajo la ventana de control 124, con el reactivo no marcado inmovilizado 128 en una posición que aparece a través de la ventana de control 124, tal y como se muestra en la Figura 6.

La matriz de flujo lateral puede estar dispuesta y mantenerse en el alojamiento del dispositivo de cualquier manera conocida en la técnica, incluyendo las explicadas anteriormente en relación con las Figuras 4 y 5. En una realización, se ha dispuesto una capa o soporte 159 impermeable al líquido de manera que se extienda subyacente a la matriz lateral.

Durante el funcionamiento del dispositivo de acuerdo con la invención, se recoge una muestra. Por ejemplo, cuando se desea la identificación de anticuerpos de IgE, se recoge una muestra de sangre completa, aunque puede emplearse un componente de sangre independiente u otra muestra. La recogida de la muestra se lleva a cabo, preferiblemente, en un dispositivo capilar de un tamaño suficiente como para proporcionar un volumen de muestra apropiado para desplazarse a lo largo de la matriz de flujo lateral, hasta la zona de control del (de los) recorrido(s) de flujo lateral del interior del dispositivo. La aplicación de un cantidad medida de muestra, a partir, póngase por caso, de un efecto capilar, contribuirá a evitar que se aplique una cantidad de muestra en exceso con respecto a la necesaria para el correcto uso del dispositivo. La capilaridad puede contener, opcionalmente, un anticoagulante, por ejemplo, heparina. Toda la muestra de sangre se suministra a la puerta para muestra desde el dispositivo capilar. A medida que la muestra de sangre se desplaza hacia abajo desde la puerta para muestra a través de las capas de papel de filtro de fibra de vidrio superior, intermedia e inferior o de fondo, las células de glóbulos rojos se conglomeran y retienen en el seno de las capas de papel de filtro. Es decir, el agente conglomerante, tal como el manitol, que está contenido en las capas de papel de filtro superior e intermedia, actúa como agente aglomerante para las células de glóbulos rojos con el fin de impedir que estas pasen a través de las capas de papel de filtro. Como resultado de ello, se suministra una muestra de plasma carente de células de glóbulos rojos desde la capa inferior de papel de filtro de fibra de vidrio a la tira principal del (de los) recorrido(s) de flujo lateral.

Una vez que la muestra de plasma entra en contacto con la(s) tira(s) principal(es), la muestra fluye lateralmente hacia la zona de detección respectiva bajo la ventana de resultado, donde el analito de anticuerpo de IgE específico contenido en la muestra se unirá a las respectivas partículas de alérgeno IgE específico inmovilizadas. El plasma de muestra continúa fluyendo a lo largo de la tira hacia la mecha superior, donde eliminará por lavado el marcado con pigmento soluble en agua de la ventana de control, a fin de proporcionar una confirmación visual de que se ha completado la etapa de adición de muestra del procedimiento de prueba. En la circunstancia de que el dispositivo que se emplea no incluya la ventana de control opcional, el usuario puede sencillamente dejar transcurrir un periodo de tiempo predeterminado, por ejemplo, 5 minutos, para asegurarse de que se ha completado la etapa de adición de muestra del procedimiento de prueba.

Se añade entonces un líquido de solución amortiguadora, preferiblemente salina, al pozo para solución amortiguadora a través de la puerta para solución amortiguadora. El líquido de solución amortiguadora es absorbido del pozo por una porción de aguas arriba de la(s) mecha(s) inferiores que se extienden dentro del pozo y, a medida que el líquido de solución amortiguadora fluye lateralmente a lo largo de la longitud de la mecha inferior, inmoviliza el reactivo marcado y secado y transporta el reactivo marcado y movilizado a lo largo de la longitud de la tira principal y a la mecha superior. Conforme el reactivo pasa a través de la zona de detección dispuesta en la tira principal, se une con cualquier analito de anticuerpo de IgE enlazado o unido a las partículas de alérgeno de IgE inmovilizadas, con lo que se obtiene una marcación detectable a simple vista. Los indicadores situados en la parte superior del alojamiento permiten la correlación de cualquier marcación detectable a simple vista en las ventanas de resultado con información de anticuerpos / alérgenos, a fin de determinar las identidades de los anticuerpos de IgE unidos en

la(s) zona(s) de detección.

A medida que el líquido de solución amortiguadora transporta el exceso de reactivo marcado a la(s) mecha(s) superior(es) y a la(s) zona(s) de control, el reactivo marcado se une con el anticuerpo de IgE inmovilizado en la zona de control central con el fin de producir una marcación detectable a simple vista adicional. El aspecto de la marcación en cada zona de control proporciona una confirmación visual de que el reactivo marcado ha pasado satisfactoriamente a través de la zona de detección y se ha completado la prueba.

De esta forma, los dispositivos de ensayo de la invención están configurados para llevar a cabo un ensayo en dos etapas. Para facilitar el uso del dispositivo de acuerdo con la invención, el dispositivo puede estar provisto de un equipo en combinación con un dispositivo capilar, de un tamaño que sea eficaz para proporcionar una cantidad apropiada de muestra para su uso en el dispositivo, tal y como se ha descrito anteriormente. El equipo puede opcionalmente comprender, de manera adicional, una cierta cantidad de líquido de solución amortiguadora, es decir, solución salina, que es eficaz a la hora de movilizar el reactivo marcado y transportar el reactivo marcado a lo largo de la matriz de flujo lateral, hasta las zonas de control. En una realización adicional, un equipo de acuerdo con la invención puede comprender una pluralidad de dispositivos de ensayo según se ha descrito, una pluralidad correspondiente de capilares para recoger muestras para su aplicación a los dispositivos, y un suministro de solución salina suficiente para un uso apropiado de los dispositivos. La solución salina puede ser suministrada en un único envase o bien puede suministrarse en una pluralidad de envases individuales en correspondencia con los dispositivos de ensayo.

Si bien los métodos y dispositivos de ensayo de acuerdo con la invención implican dos etapas, a saber, la aplicación de la muestra seguida de la aplicación del líquido de solución amortiguadora, los métodos y dispositivos pueden ser fácil y cómodamente empleados sin errores y con confirmación de que los métodos se han llevado a cabo correctamente. Es decir, puesto que una única puerta para muestra puede suministrar una muestra a uno, dos o más recorridos de flujo lateral, cada uno de los cuales tiene una pluralidad de miembros de enlace o unión, es decir, anticuerpos de IgE de diferentes especialidades, inmovilizados en una zona de detección, tan solo se requiere una única aplicación de muestra para ensayar una pluralidad de analitos, por ejemplo, una pluralidad de anticuerpos de IgE. Es más, puesto que el pozo de solución amortiguadora distribuye líquido de solución amortiguadora a todos los recorridos de flujo lateral, tan solo se requiere una única aplicación de líquido de solución amortiguadora, incluso cuando se está poniendo a prueba una pluralidad de analitos, tal como una pluralidad de anticuerpos de IgE. Por otra parte, como la zona de control puede estar provista inicialmente de un marcador de pigmento soluble en agua, sin interferir con las reacciones de detección, una señal fácilmente detectable, esto es, la desaparición de la marcación con pigmento soluble en agua, indica cuándo ha atravesado la muestra satisfactoriamente la zona de detección hacia la zona de control, y puede entonces aplicarse adecuadamente el líquido de solución amortiguadora. Por último, una señal fácilmente detectable tiene lugar cuando el reactivo marcado ha atravesado satisfactoriamente la zona de detección hacia la zona de control, por la reacción del reactivo marcado con el anticuerpo de IgE inmovilizado en la zona de control, con lo que se señala de forma clara cuándo se ha completado el método de ensayo. De acuerdo con ello, los métodos y dispositivos en dos etapas resultan cómodos y fiables.

Por otra parte, debido a que los métodos de ensayo se llevan a cabo en dos etapas, y la muestra que contiene el analito se pone en contacto con el miembro inmovilizado de par de unión específico antes de ponerse en contacto con el reactivo etiquetado, se consigue un método de detección de analito más preciso, particularmente para muestras que contienen una pluralidad de miembros de par de unión no específico, tales como una muestra de sangre entera o completa, cuando se desea la detección de anticuerpos de IgE. Los anticuerpos de IgE se dejan reaccionar con respectivos antígenos en la zona de detección y, una vez que se han producido las reacciones, el reactivo marcado es entonces transportado a las zonas de detección por la aplicación subsiguiente de líquido de solución amortiguadora. Sorprendentemente, cuando el reactivo marcado no interfiere con las reacciones de antígeno-anticuerpo en las zonas de detección, los métodos y dispositivos de ensayo exhiben una sensibilidad mejorada y se obtiene una identificación más precisa de los anticuerpos de IgE.

En una realización específica de la invención, se proporciona un dispositivo de ensayo de flujo lateral para detectar un primer miembro de un par de enlace o unión específico en una muestra que comprende una pluralidad de miembros de pares de unión no específicos, de tal manera que el dispositivo comprende un alojamiento provisto de un acceso o puerta para muestra, un acceso o puerta para solución amortiguadora, situado aguas arriba con respecto a la puerta para muestra, al menos una ventana de resultado, situada aguas abajo de la puerta para muestra, y, opcionalmente, al menos una ventana de control, dispuesta aguas abajo de la ventana de resultado, un pozo para solución amortiguadora, situado aguas arriba de la puerta para muestra y configurado para recibir una cierta cantidad de solución amortiguadora líquida, aplicada a través de la puerta para solución amortiguadora, al menos dos caminos o recorridos de flujo lateral, situados dentro del alojamiento, cada uno de los cuales se extiende desde el pozo para solución amortiguadora hasta una ubicación de aguas abajo y comprende una matriz de flujo lateral, un reactivo marcado y secado, capaz de enlazarse o unirse con el primer miembro del par de unión específico, de tal modo que el reactivo marcado se dispone en cada matriz de flujo lateral, aguas abajo del pozo para solución amortiguadora y aguas arriba de la puerta para muestra, de tal manera que el reactivo marcado está configurado para ser movilizado dentro de la matriz de flujo lateral por el paso de la solución amortiguadora líquida desde el pozo para solución amortiguadora, a lo largo de la matriz de flujo lateral, y un segundo miembro del par de

unión específico, inmovilizado en cada matriz de flujo lateral, en una primera ubicación visible a través de la ventana de resultado.

5 En una realización preferida de la invención, el dispositivo comprende, de manera adicional, una cierta cantidad del primer miembro del par de unión específico, no etiquetado e inmovilizado en cada matriz de flujo lateral, en una segunda ubicación separada y situada aguas abajo con respecto a la primera ubicación, y visible a través de al menos una de las ventanas de resultado.

10 En otra realización preferida de la invención, el dispositivo comprende, adicionalmente, un sistema de separación de sangre dispuesto entre la puerta para muestra y las matrices de flujo lateral, de tal manera que el sistema de separación de sangre comprende al menos una capa de material configurado para conglomerar en su seno células de glóbulos blancos.

En otra realización preferida de la invención, el sistema de separación de sangre incluye una capa inferior que se extiende desde una posición por debajo de la puerta para muestra hasta cada matriz de flujo lateral, y que está configurada para proporcionar comunicación de fluido entre el sistema de separación de sangre y cada matriz de flujo lateral.

15 En otra realización específica de la invención, se proporciona un dispositivo de ensayo de flujo lateral para detectar un primer miembro de un par de unión específico en una muestra que comprende una pluralidad de miembros de pares de unión no específicos, el cual comprende un alojamiento provisto de un acceso o puerta para muestra, un acceso o puerta para solución amortiguadora, situado aguas arriba con respecto a la puerta para muestra, una
20 ventana de resultado, situada aguas abajo de la puerta para muestra, y una ventana de control, dispuesta aguas abajo de la ventana de resultado, un pozo para solución amortiguadora, situado aguas arriba de la puerta para muestra y configurado para recibir una cierta cantidad de solución amortiguadora líquida, aplicada a través de la puerta para solución amortiguadora, un camino o recorrido de flujo lateral, situado dentro del alojamiento, el cual se extiende desde el pozo para solución amortiguadora hasta la ventana de control y comprende una matriz de flujo lateral, un reactivo marcado y secado, dispuesto en la matriz de flujo lateral, aguas abajo del pozo para solución
25 amortiguadora y aguas arriba de la puerta para muestra, de tal manera que el reactivo marcado está configurado para ser movilizado en la matriz de flujo lateral por una solución amortiguadora líquida que pasa desde el pozo para solución amortiguadora, a lo largo de la matriz de flujo lateral, siendo el reactivo marcado capaz de unirse con el primer miembro del par de unión específico, un segundo miembro del par de unión específico, inmovilizado en la matriz de flujo lateral, en una primera ubicación visible a través de la ventana de resultado, y un reactivo no
30 marcado, capaz de unirse con el reactivo marcado, inmovilizado en la matriz de flujo lateral, en una segunda ubicación separada y aguas abajo de la primera ubicación y visible a través de la ventana de control.

Las ventajas de los métodos y dispositivos de la presente invención se demuestran en el siguiente ejemplo.

EJEMPLO

35 Se llevaron a cabo diversos ensayos para detectar anticuerpos de IgE en mezclas de muestra de suero. Las mezclas de muestra contenían muchos anticuerpos de IgE diferentes, con cantidades conocidas de cuatro anticuerpos de IgE (e1, t3 y d1), tal y como se expone en la Tabla que sigue. Se midió el contenido total de anticuerpos de IgE de cada muestra y también se relaciona en la Tabla que sigue. Para cada mezcla de muestra, se llevó a cabo un método de ensayo en dos etapas de acuerdo con la invención, en el cual la muestra se puso en
40 contacto con antígenos de IgE inmovilizados dentro de una zona de detección de un ensayo de flujo lateral, después de lo cual se transportó un anticuerpo anti-IgE marcado (sobre partículas de sol-oro) hasta la zona de detección. Los cambios de color visibles que resultaron en la zona de detección se evaluaron en una escala de 0 (ausencia de cambio de color) a 5 (que indica el mayor cambio de color), y los resultados de ello se exponen en la Tabla. Con propósitos de comparación, las muestras fueron también sometidas a análisis utilizando un método de una sola
45 etapa según se emplea habitualmente en la técnica, de acuerdo con el cual las muestras se pusieron en contacto con el anticuerpo anti-IgE marcado (sobre partículas de sol-oro) antes de la llegada de la muestra a la zona de detección, a lo largo de las líneas de los métodos preconizados por la técnica anterior expuesta en la parte de Antecedentes de la invención. Los cambios de color visibles resultantes en la zona de detección fueron evaluados en la escala anteriormente mencionada, y los resultados también se presentan en la Tabla proporcionada a continuación.

Comparación de ensayos en dos etapas y en una etapa (concentraciones en kU/l)

Tanda	IgE total en muestra	e1 en muestra	Puntuación de e1 en 2 etapas	Puntuación de e1 en 1 etapa	t3 en muestra	Puntuación de t3 en 2 etapas	Puntuación de t3 en 1 etapa	d1 en muestra	Puntuación de d1 en 2 etapas	Puntuación de d1 en 1 etapa
1	1.958	31,7	4	2	3,1	1	0	1,49	0	0
2	4.637	65,8	4	3	28,9	2	0	>100	5	2
3	5.000	>100	5	4	12,9	3	0	>100	4	1
4	4.064	55,7	4	3	>100	3	1	>100	5	3
5	523	0,97	0	0	22,2	3	2	2,06	0	0
6	114	4,01	2	2	3,29	1	0	2,6	0	0
7	384	38,9	4	4	2,29	1	0	<	0	0

< indica una concentración por debajo de 0,35 kU/l.

5 Los resultados presentados en la Tabla demuestran, de forma sorprendente, que el método en dos etapas de acuerdo con la invención exhibe una sensibilidad mejorada con respecto a la detección de anticuerpos de IgE, particularmente a concentraciones de anticuerpos más altas, en comparación con los métodos de una sola etapa comúnmente preconizados en la técnica anterior. De esta forma, los presentes métodos y dispositivos no solo proporcionan una técnica cómoda en los centros de salud para las pruebas de anticuerpos de IgE, sino que también proporcionan una sensibilidad mejorada en la detección de anticuerpos de IgE específicos para el diagnóstico mejorado de la alergia.

10 Las ilustraciones y realizaciones específicas que se han descrito en la presente memoria son solo de naturaleza ejemplar y no se pretende que sean limitativas de la invención definida por las reivindicaciones. Realizaciones y ejemplos adicionales resultarán evidentes para una persona con conocimientos ordinarios de la técnica a la vista de esta memoria, y se encuentran dentro del ámbito de la invención reivindicada.

REIVINDICACIONES

- 1.- Un dispositivo de ensayo inmunológico de flujo lateral para identificar anticuerpos de IgE específicos en una muestra, el cual comprende un alojamiento provisto de un acceso o puerta para muestra, un acceso o puerta para solución amortiguadora, situado aguas arriba con respecto a la puerta para muestra, y una ventana de resultado, situada aguas abajo de la puerta para muestra, un pozo para solución amortiguadora, situado aguas arriba de la puerta para muestra y configurado para recibir una cierta cantidad de solución amortiguadora líquida, aplicada a través de la puerta para solución amortiguadora, un camino o recorrido de flujo lateral, situado dentro del alojamiento y que se extiende desde el pozo para solución amortiguadora y al menos hasta la ventana de resultado, y comprende una matriz de flujo lateral, un reactivo marcado y secado, configurado para enlazarse o unirse con un anticuerpo de IgE dispuesto en la matriz de flujo lateral, aguas abajo del pozo para solución amortiguadora y aguas arriba de la puerta para muestra, de tal manera que el reactivo marcado está configurado para ser movilizado dentro de la matriz de flujo lateral por el paso de la solución amortiguadora líquida desde el pozo para solución amortiguadora, a lo largo de la matriz de flujo lateral, y una pluralidad de especies de antígeno para IgE, inmovilizadas en posiciones respectivas en la matriz de flujo lateral, en una primera ubicación visible a través de la ventana de resultado.
- 2.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual la matriz de flujo lateral comprende, en su extremo de aguas arriba, una mecha de aguas arriba que está configurada para el aporte de una solución amortiguadora líquida desde el pozo para solución amortiguadora a la matriz de flujo lateral.
- 3.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 2, en el cual el reactivo marcado se proporciona en la mecha de aguas arriba de la matriz de flujo lateral.
- 4.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 3, en el cual el alojamiento está provisto de una ventana de control situada aguas abajo de la ventana de resultado, y la matriz de flujo lateral comprende, en su extremo de aguas abajo, una mecha de aguas abajo en la que se inmoviliza un anticuerpo de IgE o antirratón no marcado, en una ubicación separada de, y dispuesta aguas abajo con respecto a, la primera ubicación, y visible a través de la ventana de control.
- 5.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 4, en el cual la mecha de aguas abajo incluye marcaciones con pigmento soluble en agua visibles a través de la ventana de control, antes de cualquier adición de líquido al dispositivo.
- 6.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 3, en el cual la matriz de flujo lateral comprende una matriz de nitrocelulosa o una matriz de polímero entre la mecha de aguas arriba y la mecha de aguas abajo.
- 7.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 6, en el cual la matriz de nitrocelulosa se extiende aguas arriba con respecto a la puerta para muestra.
- 8.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual el alojamiento está provisto de una sola puerta para muestra y una sola puerta para solución amortiguadora, de tal manera que el dispositivo comprende dos caminos o recorridos de flujo lateral, dos ventanas de resultado y dos ventanas de control, y de modo que cada recorrido de flujo lateral está asociado con una ventana de resultado respectiva y una ventana de control respectiva.
- 9.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 8, en el cual los recorridos de flujo lateral son sustancialmente paralelos.
- 10.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un sistema de separación de sangre dispuesto entre la puerta para muestra y la matriz de flujo lateral.
- 11.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 10, en el cual el sistema de separación de sangre comprende al menos una capa de material configurada para agregar o conglomerar células de glóbulos rojos en su seno.
- 12.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual el sistema de separación de sangre comprende al menos una capa de papel de filtro de fibra de vidrio, que incluye manitol como agente aglomerante.
- 13.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 10, en el cual el sistema de separación de sangre incluye una capa inferior que se extiende desde una posición situada bajo la puerta para muestra hasta la matriz de flujo lateral, y que está configurada para proporcionar comunicación de fluido entre el sistema de separación de sangre y la matriz de flujo lateral.
- 14.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual la pluralidad de especies de antígeno para IgE están fijadas a unas partículas inmovilizadas que exhiben grupos hidrófilos en su superficie y tienen un diámetro que es más pequeño que la dimensión interna más pequeña de los canales de flujo de la matriz de flujo lateral en la primera ubicación, de tal manera que las partículas están inmovilizadas en la matriz de flujo lateral, en la primera ubicación.
- 15.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual el alojamiento incluye unos indicadores adyacentes

a la ventana de resultado, que distinguen las posiciones de las respectivas especies de antígeno.

16.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual el reactivo marcado comprende anticuerpo anti-IgE marcado con un sol-metal.

5 17.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 16, en el cual el anticuerpo anti-IgE marcado está marcado con un sol-oro.

10 18.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, de tal manera que el dispositivo comprende al menos dos recorridos de flujo lateral dentro del alojamiento, cada uno de los cuales se extiende desde el pozo para solución amortiguadora y al menos hasta las ventanas de resultado, y comprende una matriz de flujo lateral, un reactivo marcado y secado, configurado para unirse al anticuerpo de IgE dispuesto en cada matriz de flujo lateral, aguas abajo del pozo para solución amortiguadora y aguas arriba de la puerta para mezcla, de tal modo que el reactivo marcado está configurado para ser movilizado dentro de la matriz de flujo lateral por el paso de una solución amortiguadora líquida desde el pozo para solución amortiguadora, a lo largo de la matriz de flujo lateral, y una pluralidad de especies de antígeno para IgE, inmovilizadas en posiciones respectivas de cada matriz de flujo lateral, en una primera ubicación visible a través de al menos una de las ventanas de resultado.

15 19.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 18, en el cual el alojamiento está provisto de al menos una ventana de control, situada aguas abajo de la ventana de resultado, y el dispositivo comprende, adicionalmente, un anticuerpo de IgE no marcado, inmovilizado en cada matriz de flujo lateral, en una segunda ubicación separada de, y aguas abajo con respecto a, la primera ubicación, y visible a través de al menos una de las ventanas de resultado.

20 20.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 18, en el cual cada matriz de flujo lateral comprende, en su extremo de aguas arriba, una mecha de aguas arriba que está configurada para suministrar una solución amortiguadora líquida desde el pozo para muestra a la matriz de flujo lateral.

21.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 20, en el cual el reactivo marcado se ha proporcionado en la mecha de aguas arriba de cada matriz de flujo lateral.

25 22.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 19, en el cual cada matriz de flujo lateral comprende, en su extremo de aguas abajo, una mecha de aguas abajo en la que se encuentra inmovilizado un anticuerpo de IgE o antirratón no marcado.

23.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 22, en el cual cada mecha de aguas abajo incluye marcaciones con pigmento soluble en agua, visibles a través de la ventana de control antes de cualquier adición de líquido al dispositivo.

30 24.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 22, en el cual cada matriz de flujo lateral comprende una matriz de nitrocelulosa entre la mecha de aguas arriba y la mecha de aguas abajo, y en el que la primera ubicación en la que está inmovilizada la pluralidad de especies de antígeno, se encuentra en la matriz de nitrocelulosa.

25.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 24, en el cual cada matriz de nitrocelulosa se extiende aguas arriba de la puerta para muestra.

35 26.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 18, en el que el alojamiento está provisto de una sola puerta para muestra y una sola puerta para solución amortiguadora, de tal manera que el dispositivo comprende dos recorridos de flujo lateral, dos ventanas de resultado y dos ventanas de control, y en el cual cada recorrido de flujo lateral está asociado con una ventana de resultado respectiva y una ventana de control respectiva.

40 27.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 18, que comprende adicionalmente un sistema de separación de sangre dispuesto entre la puerta para muestra y las matrices de flujo lateral.

28.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 27, en el cual el sistema de separación de sangre incluye una capa inferior que se extiende desde una posición por debajo de la puerta para muestra hasta cada matriz de flujo lateral, y está configurado para proporcionar comunicación de fluido entre el sistema de separación de sangre y cada matriz de flujo lateral.

45 29.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 18, en el cual la pluralidad de especies de antígeno están fijadas a unas partículas inmovilizadas que exhiben grupos hidrófilos en su superficie y tienen un diámetro que es más pequeño que la dimensión interna más pequeña de los canales de flujo de las matrices de flujo lateral de la primera ubicación, de tal manera que las partículas están inmovilizadas en las matrices de flujo lateral de la primera ubicación.

50 30.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 18, en el cual el alojamiento incluye unos indicadores adyacentes a la ventana de resultado que distinguen las ubicaciones de las respectivas especies de antígeno.

31.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 18, en el cual el reactivo marcado comprende anticuerpo anti-IgE

marcado con un sol-metal.

32.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 31, en el cual el anticuerpo anti-IgE marcado está marcado con un sol-oro.

5 33.- Un método de ensayo de flujo lateral en dos etapas para identificar anticuerpos de IgE específicos en una muestra, que comprende aplicar una muestra a un acceso o puerta para muestra, perteneciente a un dispositivo, de tal manera que el dispositivo está configurado para suministrar la muestra a una matriz de flujo lateral que tiene una pluralidad de especies de antígeno para IgE inmovilizadas en posiciones respectivas de una primera ubicación, permitir que la muestra se desplace a lo largo de la matriz de flujo lateral, a través de la pluralidad inmovilizada de especies de antígeno, de tal manera que los anticuerpos de IgE contenidos en la muestra se unen a las especies de antígeno, y hasta una segunda ubicación situada aguas abajo de la primera ubicación, aplicar una solución amortiguadora líquida a la matriz de flujo lateral con el fin de movilizar un reactivo marcado que está configurado para enlazarse o unirse al anticuerpo de IgE y se seca en la matriz de flujo lateral, en una ubicación situada aguas arriba con respecto al suministro de la muestra a la matriz de flujo lateral, y permitir que el reactivo marcado, movilizado por la solución amortiguadora líquida, se desplace a lo largo de la matriz de flujo lateral, a través de la pluralidad inmovilizada de especies de antígeno, donde se une a los anticuerpos de IgE enlazados o unidos.

34.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 33, en el cual la solución amortiguadora líquida se aplica a través de una puerta para solución amortiguadora, situada aguas arriba con respecto al reactivo marcado y secado.

20 35.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 34, en el cual la solución amortiguadora líquida se suministra desde la puerta para solución amortiguadora a un pozo para solución amortiguadora en comunicación de fluido con la matriz de flujo lateral.

36.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 33, en el cual la muestra es una muestra de sangre entera o completa, y el dispositivo está configurado para filtrar la muestra y suministrar la muestra filtrada, carente de células de glóbulos rojos, a la matriz de flujo lateral.

25 37.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 36, en el cual la al menos una capa de material incluye manitol como agente aglomerante.

38.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 33, en el cual el desplazamiento de la muestra filtrada a la segunda ubicación se detecta por un cambio visible en la segunda ubicación, y la solución amortiguadora líquida se aplica después de detectarse el cambio visible.

30 39.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 33, en el cual el reactivo marcado, movilizado por la solución amortiguadora líquida, se desplaza hasta la segunda ubicación.

40.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 39, en el cual el desplazamiento del reactivo marcado hasta la segunda ubicación es detectado por un cambio visible en la segunda ubicación.

35 41.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 33, en el cual el reactivo marcado comprende un anticuerpo de IgE.

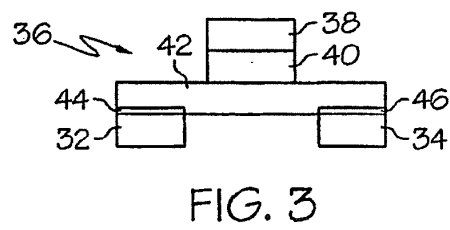
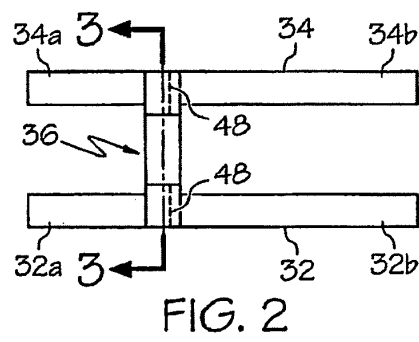
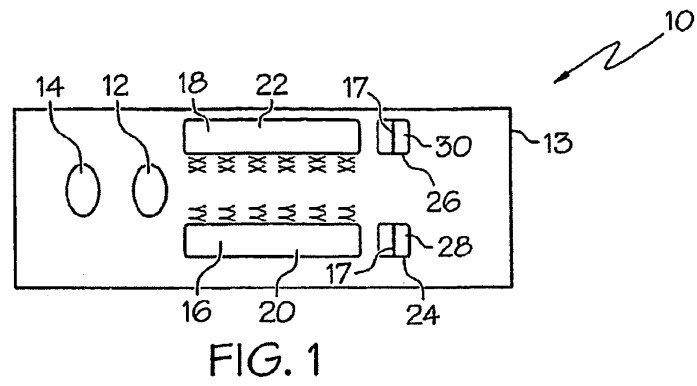
42.- El método en dos etapas de acuerdo con la reivindicación 33, en el cual la muestra es sangre entera o completa.

40 43.- El método de acuerdo con la reivindicación 34, en el que la muestra es sangre y en el cual la solución amortiguadora líquida se aplica a la puerta para solución amortiguadora una vez transcurrido un periodo de tiempo predeterminado.

44.- El método de acuerdo con la reivindicación 43, en el cual el dispositivo es el dispositivo de acuerdo con la reivindicación 18.

45 45.- Un equipo para identificar anticuerpos de IgE específicos en una muestra, que comprende un capilar para recoger una cierta cantidad de sangre entera o completa, y el dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 32, en el cual el dispositivo está configurado para recibir la cantidad de sangre entera desde el capilar.

46.- El equipo de acuerdo con la reivindicación 45, que comprende adicionalmente una solución amortiguadora líquida en una cantidad suficiente para movilizar el anticuerpo marcado y transportar el anticuerpo marcado a lo largo de la matriz de flujo lateral, hasta la segunda ubicación.



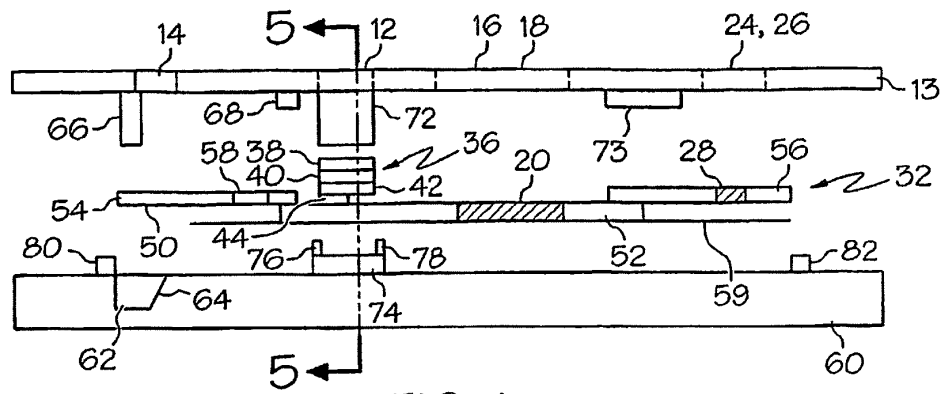


FIG. 4

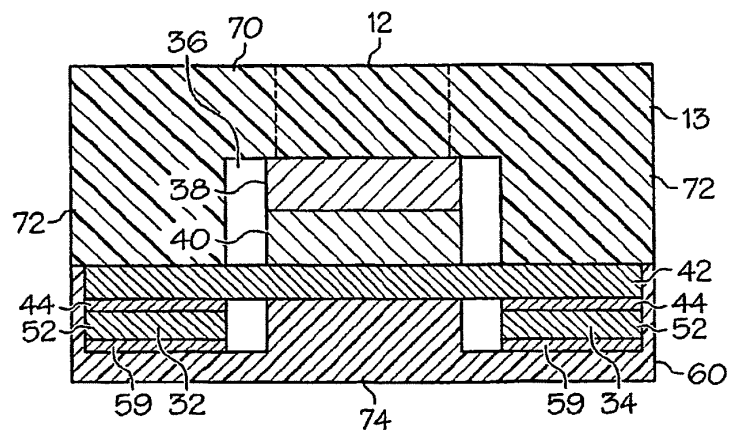


FIG. 5

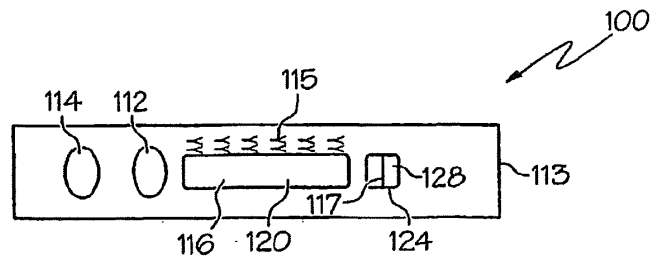


FIG. 6

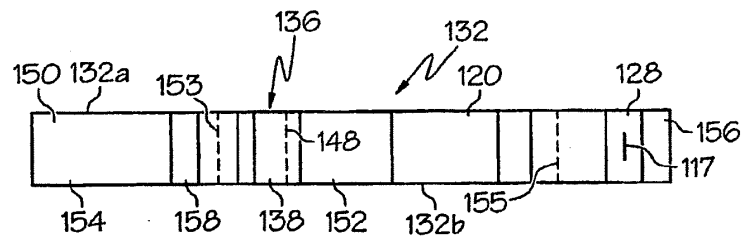


FIG. 7

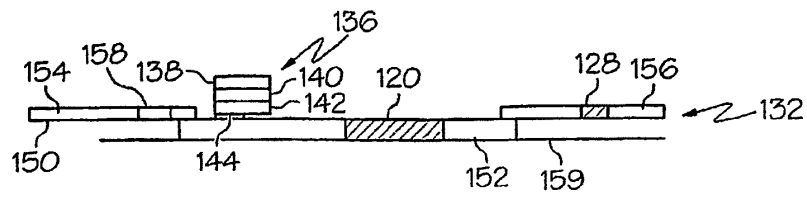


FIG. 8