

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 109**

51 Int. Cl.:

G01N 21/84 (2006.01)

G01N 33/52 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/558 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2012 E 12787472 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2015 EP 2766727**

54 Título: **Dispositivo de ensayo que incluye un filtro óptico y un método de ensayo**

30 Prioridad:

30.08.2011 US 201113221381
24.11.2011 GB 201120356

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

29.12.2015

73 Titular/es:

SUPERNOVA DIAGNOSTICS, INC. (100.0%)
20271 Goldenrod Lane, Suite 2028
Germantown, Maryland 20876, US

72 Inventor/es:

CAMPBELL, NEIL J.;
MORAVICK, KEITH EDWARD y
RICHARDSON, BRUCE J.

74 Agente/Representante:

LÓPEZ CAMBA, María Emilia

ES 2 555 109 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo de ensayo que incluye un filtro óptico y un método de ensayo.

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Esta invención se relaciona de manera general con los dispositivos para los ensayos biológicos, los análisis de patógenos o moleculares y a los sistemas y los métodos para tales análisis. La invención puede ser utilizada tal vez para los bio-ensayos tales como los ensayos sándwich o los ensayos competitivos, es decir, los inmuno ensayos, por ejemplo los inmuno ensayos de fluorescencia (FIA).

Pueden ser utilizados sistemas ópticos con el fin de determinar la presencia, la concentración o la cantidad de un material objetivo o un analito en una muestra de prueba, cuantitativamente, semi cuantitativamente o cualitativamente. Sin embargo, mientras que tales sistemas pueden utilizarse con éxito, sufren de un número de desventajas. Por ejemplo, pueden requerir la utilización de un equipo relativamente costoso con el fin de realizar el ensayo que puede no ser el apropiado para algunas determinaciones o puede no estar disponible para algunas pruebas. Por ejemplo, en algunos casos, puede ser suficiente una determinación cualitativa de la presencia de un analito mientras que en otros casos puede ser necesaria una determinación cuantitativa. Además estas pruebas pueden ser de rendimiento limitado conduciendo a pruebas que deben ser repetidas. Adicionalmente, existe un deseo general de reducir el coste del equipo utilizado para el ensayo y con el fin de reducir el tiempo necesario para realizar la prueba. En otros casos, puede no ser deseado realizar de tal manera un ensayo bajo las condiciones de laboratorio pero, en su lugar, puede que sea necesario realizar la prueba sobre el terreno con el mínimo de equipo.

El documento de patente US 2005/243321 A1 divulga un sistema que emplea las técnicas de detección basadas en la transmisión con el fin de determinar la presencia o concentración de un analito dentro de una muestra que se proporciona. Específicamente, el sistema de detección óptica contiene un dispositivo de ensayo basado en la cromatografía que es colocado en la trayectoria de la radiación electromagnética definida entre una fuente de iluminación y el detector. Para mejorar la sensibilidad y la relación señal - ruido del sistema sin aumentar considerablemente los costes, se reduce al mínimo la distancia entre la fuente de iluminación y/o el detector y el dispositivo de ensayo. La fuente de iluminación y/o el detector también puede ser colocados directamente adyacente al dispositivo de ensayo. Adicionalmente, el sistema puede ser controlado selectivamente con la intención de reducir la dependencia de los componentes ópticos externos, tales como los filtros ópticos o los difusores.

35 RESUMEN DE LA INVENCION

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona un dispositivo de ensayo independiente de acuerdo con la reivindicación independiente 1.

El dispositivo puede ser empleado para realizar pruebas de flujo lateral u otras formas de prueba tales como los dispositivos de flujo transversal y pruebas y las pruebas de micro fluidos, realizadas expresamente para cualquier prueba que pueden ser utilizadas para ensayos competitivos o los ensayos sandwich.

Esta forma de dispositivo puede ser empleada en un número de maneras. Por ejemplo, puede ser usado junto con un dispositivo de iluminación y lectura con el fin de detectar muy pequeñas cantidades del analito o para realizar las pruebas cuantitativas en el analito. Sin embargo, en otras circunstancias el dispositivo puede ser un dispositivo que se mantenga de pie o trabaje solo que puede ser empleado sin un lector con la intención de realizar una prueba menos sensible o cualitativa simplemente con el fin de determinar la presencia o la ausencia de un analito.

De acuerdo con otra realización, la invención proporciona una configuración para realizar un ensayo de acuerdo con la reivindicación 8.

De acuerdo con otra realización, la invención proporciona un método de realización de una prueba en un analito de acuerdo con la reivindicación independiente 9.

Normalmente, el dispositivo de ensayo incluirá una zona etiquetada donde se encuentra una cantidad del material de la etiqueta, estando localizada la zona de la etiqueta de manera preferible en el camino entre la zona de aplicación y la zona de captura de tal manera que, en la aplicación del analito, el analito contactará con el material de la etiqueta, y el analito y el material de la etiqueta pasarán de manera conjunta a lo largo del camino a la zona de captura. Sin embargo, en el más amplio aspecto de la invención, no es necesario que el material de la etiqueta esté localizado en el camino del dispositivo cuando el dispositivo de ensayo es suministrado y es posible que el material de la etiqueta sea suministrado separadamente y sea aplicado al dispositivo al mismo tiempo junto con el analito. Alternativamente, el material de la etiqueta puede ser mezclado previamente con el analito, es decir, antes de aplicar el analito al dispositivo.

65 BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La invención será descrita ahora por medio de un ejemplo sólo con referencia a los dibujos, en los que:

- 5 La figura 1 es una vista en perspectiva esquemática de un dispositivo de prueba de acuerdo con la presente invención y un lector;
- La figura 2 es una vista más detallada del dispositivo de prueba de la figura 1;
- La figura 3 es una vista de despiece del dispositivo de prueba mostrado en la Figura 2 que muestra los diferentes componentes del mismo.
- La figura 4 es que una representación gráfica de los espectros de emisión y de absorción de una forma del material de etiqueta que puede ser empleado en el dispositivo;
- 10 La figura 5 es una vista del dispositivo con la superficie superior retirada con el fin de mostrar los detalles internos del mismo;
- La figura 6 es una vista esquemática del dispositivo y del lector;
- La figura 7 es una vista del dispositivo durante una prueba de acuerdo con la invención;
- La figura 8 muestra el dispositivo en un punto durante la prueba; y
- 15 La figura 9 muestra el dispositivo en otro punto durante la prueba.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 20 La figura 1 muestra esquemáticamente un dispositivo de ensayo o una tira de ensayo 1 y un lector 2 para permitir una prueba cuantitativa o cualitativa para ser realizada en un analito. En una realización de la invención, puede ser aplicada una cantidad de un analito a una parte del dispositivo de tal manera que fluya a lo largo de un camino en el dispositivo hacia el extremo opuesto del mismo y el dispositivo puede ser insertado en el lector 2 para obtener un indicativo de salida de la cantidad del analito en una pantalla de salida 4 del lector.
- 25 La forma del dispositivo de ensayo está mostrado con más detalle en las figuras 2 y 3. Tal y como está mostrado en la figura 3, el dispositivo comprende una tapa de fondo generalmente transparente 6 y una tapa superior generalmente transparente 8 que está situada sobre la tapa del fondo y unida a la misma. La tapa superior 8 puede incluir un área 9 en la cual puede ser fijada una etiqueta física para ofrecer información. Las tapas superior y de fondo pueden ser transparentes en toda su superficie lo que permite que ellas estén hechas de una sola pieza de material plástico. Sin embargo, esto no es esencial, y solamente es necesario que las tapas superior y de fondo sean transparentes en la zona de los caminos 10 por los que el analito será obligado a desplazarse. Las tapas superior y de fondo incluyen una pluralidad de caminos 10, dos en este caso, uno para la detección del analito y un camino de control, aunque puede ser utilizado otro número de caminos si, por ejemplo, un número de diferentes analitos tienen que ser detectado utilizando el mismo dispositivo de ensayo. Los caminos están formados de un material poroso tal como la nitrocelulosa. Los caminos 10 se extienden desde una zona para la dispensación de las muestras o zona de aplicación 14 (véase la figura 5) en una región de un extremo del dispositivo donde el analito puede ser dispensado durante la prueba a la región del extremo opuesto de tal manera que el analito viajará a lo largo del camino durante la prueba. En esta forma de dispositivo de ensayo, el espesor de la tapa transparente 8 puede ser reducido a lo largo de una región de espesor reducido 11 que se extiende a lo largo de parte del camino 10 con el fin de ser visto más fácilmente a través de la tapa transparente 8. Un depósito de recogida de lavado 12 puede ser proporcionado en la región del extremo opuesto del dispositivo de tal manera que el lavado puede ser aplicado a los caminos con la finalidad de que el analito fluya a lo largo del camino al depósito de recogida de lavado.
- 45 Una cantidad de una etiqueta, que como se utiliza en este documento incluye algún precursor de la etiqueta, puede ser proporcionada en una zona de receptor primario de la etiqueta 16 en uno o ambos de los caminos en una posición entre la zona de dispensación de las muestras y la zona de residuos o en el depósito de recogida de lavado de tal manera que, como el analito viaja a lo largo del camino, la etiqueta será vinculada por el analito y viajará a lo largo del camino junto con el analito. Una unión específica puede ser formada entre la etiqueta y el analito, por ejemplo una unión entre un par de anticuerpos, un par de antígenos, una unión de ADN o cualquier otro vínculo. En un ejemplo, donde el analito es avidina, estreptavidina y neutravidina la material de la etiqueta puede ser biotinilado de tal manera que formará un vínculo biotina-avidina con el analito. La presencia del analito puede, de este modo, ser detectada mediante la observación posterior de la presencia de la etiqueta. La etiqueta es descrita en mayor detalle más abajo.
- 55 Aguas abajo de la etiqueta y de la zona primaria de recepción 16 a lo largo del camino hay una zona de captura 18 (véase la figura 5) donde se encuentra una cantidad de material de captura. El material de captura está vinculado al camino y se unirá a cualquiera de los analitos que pasan a lo largo del camino de tal manera que el analito será retenido en una posición en el camino 10 correspondiente al material de captura. En el caso de un dispositivo que es utilizado para detectar la avidina, la estreptavidina o la neutravidina mencionadas más arriba, el material de captura puede también ser biotinilado con la intención de que el analito sea vinculado al camino mediante un vínculo de biotina-avidina.
- 60 Durante el ensayo, una cantidad del analito es dispensado en un puerto para la dispensación 20 (ver figura 2) que está ubicado sobre uno de los caminos por encima de la zona de aplicación 14. El analito puede ser dispensado por medio de una pipeta, un gotero u otro dispositivo adecuado tal y como está mostrado en la Figura 7 con el fin de
- 65

dispensar una cantidad definida del analito. Una cantidad de un analito de control puede ser aplicada a un puerto para la dispensación 21 situado sobre la zona de aplicación del otro camino 10. El analito de control puede ser uno que exhibe un fuerte vínculo conocido con el material de etiqueta y el material de captura y puede estar presente una etiqueta de control (que puede ser la misma o diferente a la etiqueta empleada en el otro camino) con el fin de mostrar una señal fuerte y definida cuando el dispositivo es iluminado con el fin de permitir al operador confirmar que ese analito ha sido dispensado durante el ensayo.

En el caso de un análisis cuantitativo, es posible utilizar la señal generada desde la etiqueta de control como una referencia contra la cual puede ser comparada la señal desde la señal del analito/ etiqueta. Por ejemplo el vínculo de control del analito/etiqueta de control y el vínculo de analito de control / material de captura de control puede estar basado en un vínculo biotina-avidina o en un vínculo similar de acuerdo con lo mencionado más arriba. Inicialmente, el analito humidificará los caminos situados por debajo de los puertos para la dispensación 20 y 21 tal y como está mostrado por las regiones sombreadas en la figura 8. El analito viajará a lo largo del camino gracias a la acción capilar, tomando con él la etiqueta de la zona de etiqueta 16 de la figura 5. En la zona de captura 18, el analito y la etiqueta se unirán al camino tal y como está mostrado en la región sombreada en la figura 9. Aguas abajo de la zona de captura 18 en el camino o en cada uno de los caminos 10 existe una zona de control de proceso 26 que está localizada debajo de una ventana de control de proceso 28 en la superficie superior del dispositivo. Después de la aplicación del analito, este viajará a lo largo del camino por la acción capilar y humidificará el camino causando un cambio de color. El camino puede ser visto a través de las ventanas de control de proceso 28 con el fin de observar el cambio de color y garantizar que el analito y la etiqueta han viajado a lo largo del camino hasta y más allá de la zona de captura 18.

Entonces, puede ser aplicado un lavado para hacer que el analito, el analito de control y la etiqueta fluyan a lo largo de los caminos hacia el depósito de recolección de lavado 12. El lavado puede ser aplicado en cualquier número de maneras. Por ejemplo puede ser aplicado al puerto para la dispensación de la muestra o un puerto alternativo, por medio de una pipeta, un gotero u otro dispositivo que dispensará una cantidad de lavado en los puertos para la dispensación 20 y 21. Alternativamente, puede proporcionarse un depósito de dispensación de lavado 24 en el dispositivo al extremo del dispositivo opuesto al depósito de recolección de lavado o en una lateral del dispositivo. El depósito de dispensación puede tener en la forma de una vejiga, paquete de ampollas (blíster) o una bolsita que puede ser pinchada con el fin de que el lavado fluya a lo largo de los caminos. En otra forma de configuración donde es empleado un lector tal como está descrito a continuación, el lector puede ser diseñado para recibir el dispositivo de ensayo y estar provisto con un borde o una protuberancia que aplicará una tensión al depósito de dispensación de lavado y lo romperá cuando el dispositivo está insertado en el lector de tal manera que el lavado es aplicado automáticamente con la inserción del dispositivo de ensayo en el lector.

Una vez que el lavado ha sido aplicado, no debe estar presente de manera sustancial ningún material en el camino distinto que el analito ligado a la zona de captura y la etiqueta está vinculada al analito.

Con muchas formas de captura y de configuraciones de etiqueta el dispositivo de ensayo puede estar dispuesto con el fin de ser iluminado y leído tan pronto como el dispositivo esté lavado. Sin embargo, en algunos casos puede ser necesario además un paso posterior de procesamiento con la intención de activar la etiqueta (al cual puede hacerse referencia en este documento en ocasiones como un precursor de la etiqueta). Por ejemplo, donde se utilizan algunas formas de etiqueta fluorescente como está descrito más abajo, y en particular cuando se utiliza diacetato de fluoresceína (FDA), puede que sea necesario hidrolizar el precursor y/ o calentar con el fin de liberar la etiqueta. Esta operación puede ser realizada en cualquier momento apropiado. Por ejemplo, si es necesario un paso de hidrólisis de ácido o base, puede ser aplicado el correspondiente ácido o base a cualquiera de los dos antes o después de la aplicación del analito, por ejemplo junto con la etapa de lavado. En este caso, el lavado en el depósito de lavado tiene un pH que provoca la hidrólisis de tal manera que el paso de la activación se produce automáticamente con la etapa de lavado.

El dispositivo de ensayo está ahora listo para ser iluminado con el fin de detectar la presencia de analito. Esto puede ser conseguido por medio de un lector tal y como está mostrado en las figuras 1 y 6. El lector se compone de una caja con un orificio o una ranura 35 en él mismo con el fin de recibir el dispositivo de ensayo 1, una fuente luminosa 32 por ejemplo, una lámpara LED o una incandescente, ubicada en un lado de la ranura para la recepción del dispositivo de ensayo y un sensor óptico, por ejemplo, un diodo PIN o un fotodiodo de avalancha ubicado en el lado opuesto de la ranura, de tal modo que la luz de la fuente de luz pasará través del dispositivo. La fuente de luz puede recibir la energía de una batería estándar 36 o de otra fuente de energía tal como un transformador. El lector incluye un procesador convencional de la señal 38 para controlar los dispositivos electrónicos de mando de la fuente de luz 40, un circuito de amplificador de detector 42 y un circuito de visualización para la pantalla 4.

El dispositivo de ensayo se proporciona preferiblemente con un perfil polarizado con el fin de asegurarse que el dispositivo no puede ser insertado en el lector boca abajo o con la boca hacia delante. Como será apreciado, el insertar el dispositivo al revés boca abajo causará que cualquier longitud de onda de excitación sea filtrada por el filtro de longitud de onda más larga en la superficie superior del dispositivo. De esa manera, el perfil polarizado puede incluir una esquina cortada 29 que cooperará con una correspondiente esquina en el lector. También, un corte circular parcial 30 puede ser incluido en un extremo del dispositivo con el fin de asegurarse de que extremo del

dispositivo está insertado. Pueden ser empleadas muchas otras formas de perfil polarizado.

En algunos casos, el dispositivo de ensayo puede ser iluminado tan pronto como los caminos han sido lavados, pero en otros casos, puede ser necesario esperar durante un periodo de tiempo antes de la iluminación, caso en el cual puede estar provisto un temporizador en el lector con el fin de asegurarse de que el dispositivo es iluminado y leer en el momento adecuado. Por ejemplo, en el caso de base hidrolizada por la FDA, puede resultar ventajoso esperar por un periodo de 100 a 500 segundos después de la hidrólisis antes de la iluminación.

Aunque el término "luz" ha sido utilizado en este documento, será apreciado que es esto es debido a que el dispositivo se ha intentado para la lectura visual. Cualquier radiación electromagnética puede, en principio, ser utilizada para leer el dispositivo y la luz no será necesariamente la luz visible, aunque esta es lo preferible. La luz puede tener componentes en el espectro infrarrojo o ultravioleta y puede incluso tener un espectro en el cual la radiación estar de manera predominante en rangos de longitud de onda fuera del rango de longitud de onda visible. Sin embargo, tal y como se explica a continuación, la luz está preferiblemente en el rango de lo visible.

El material de la etiqueta localizado en el dispositivo puede ser uno que emitirá o modificará la luz, por lo menos cuando esté activado, de tal manera que la luz emitida desde el dispositivo debida a la presencia del analito se diferenciará de la luz de iluminación.

Una superficie del dispositivo que recibe la luz solamente después de que esta ha pasado a través del material de la etiqueta, en esta realización la tapa superior 8, está formada por un material que proporciona un primer filtro óptico que permitirá la transmisión de la luz emitida o modificada por el material de la etiqueta y bloqueará la luz de por lo menos un rango distinto de longitud de onda. Esto tiene la ventaja de que el efecto del material de la etiqueta es mejorado mediante la retirada de por lo menos algo de la luz del fondo que no está afectado por el material de la etiqueta.

La otra superficie del dispositivo, es decir la superficie que será iluminada por la fuente de luz durante la etapa de lectura, también está formada de un material que forma un segundo filtro óptico que tiene una característica de transmisión óptica diferente de la del primer filtro óptico.

El segundo filtro óptico permite la transmisión de la luz de un rango de longitud de onda más corto que aquel del primer filtro óptico, por ejemplo el segundo filtro óptico puede ser un filtro azul mientras que el primer filtro óptico puede ser un filtro verde. Especialmente, los filtros bloquearán juntos de esta forma la luz de manera sustancial en el rango completo de la luz visible. En otras palabras, en la forma preferida del dispositivo, el corte de la longitud de onda larga en el segundo filtro será sustancialmente el mismo como o en la región de corte de longitud de onda corta del primer filtro, por lo que la combinación de los dos filtros bloqueará sustancialmente toda la luz visible.

Los filtros proporcionados en la parte superior y parte del fondo del dispositivo de ensayo pueden formarse a partir de cualquier material apropiado, por ejemplo el vidrio, los materiales plásticos, los materiales de película fina o pueden ser filtros holográficos o filtros de interferencia. En un filtro de interferencia, un recubrimiento de dieléctrico es depositado en capas con el fin de permitir que sólo pasen las longitudes de onda deseadas mientras que es reflejada la luz de las otras longitudes de onda. Sin embargo, en vista del hecho que los filtros son proporcionados en el dispositivo de ensayo el cual será un elemento consumible, los materiales deben ser relativamente baratos y por ello se prefieren los filtros plásticos.

Si el material de la etiqueta es tal como un material fluorescente o fosforescente que exhibe un giro de Stokes entre su espectro de absorción y su espectro de emisión, es posible que los filtros formados por ambas superficies del dispositivo, bloqueen sustancialmente toda la luz pero permitan que sea detectada la fluorescencia o fosforescencia causadas por la etiqueta. Por ejemplo, la figura 4 muestra el espectro de absorción de la fluoresceína (véase el gráfico A) la cual puede ser empleada como un material de etiqueta con un máximo de 492 nm y su espectro de emisión (gráfico B) con un máximo de 517 nm. Como puede ser visto, el uso de un segundo filtro óptico que tiene un corte de longitud de onda larga en la región de 500 nm y un segundo filtro óptico que tiene que un corte de longitud de onda corta de en la región de 500 nm permitirá que sea observada sustancialmente la fluorescencia completa de la fluoresceína contra un fondo oscuro.

El uso de etiquetas que pueden afectar a la longitud de onda de la luz tales como los materiales fluorescentes o fosforescentes junto con los filtros ópticos en ambos lados del dispositivo de ensayo tal y como está descrito más arriba (en lugar de que los filtros estén asociados con el lector) tiene la ventaja importante de que es posible, al menos para un número de pruebas (por ejemplo muchas de las pruebas cualitativas o donde está presente una alta concentración de analito) con el fin de dispensar con el lector óptico de tal manera que es posible simplemente mantener el dispositivo de ensayo para una fuente de luz blanca, por ejemplo el sol y, observar la presencia o ausencia de algunas bandas en el camino causadas por la etiqueta fluorescente.

De acuerdo con el aspecto más amplio de la invención, puede ser utilizado cualquiera de entre una serie de materiales para las etiquetas el dispositivo. Estos pueden incluir tintes o pigmentos de color simple que afectarán el espectro de absorción del analito, pero preferiblemente son materiales fluorescentes, fosforescentes o

quimioluminiscentes. Los ejemplos de materiales que pueden ser empleados como etiquetas están divulgados en el documento de patente U.S. Patent No. 7.796.266. Además, el término "etiqueta" tal y como es utilizado aquí puede incluir precursores de una etiqueta donde sean apropiados, de tal manera que algún paso o pasos adicionales pueden ser tal vez necesarios antes de que el material funcione como una etiqueta óptica, por ejemplo puede 5 requerida la hidrólisis de ácido o de base o la aplicación de calor o ambos.

De acuerdo con una realización preferente, el material de la etiqueta consta de cápsulas de paredes de lípidos, que tienen opcionalmente una capa exterior de polímero, que contiene un precursor de la señal. Tales tipos de material de la etiqueta están divulgados en la solicitud internacional de patente número WO 02/12888 A2.

Por ejemplo, las cápsulas pueden ser formadas a partir de los lípidos DSPE PEG2000 Amina y sulfato dodecil de sodio (SDS) y pueden contener diacetato de fluoresceína (FDA) como el precursor de la señal. Estas cápsulas pueden ser activadas por estar situadas en una solución de activación que tiene un pH de aproximadamente 10,1 y entonces calentadas. El pH de la solución de activación es elegido para estar justo por debajo del valor de pH en el cual la FDA en este tipo de cápsula va a someter rápidamente en hidrólisis a la fluoresceína sin calor adicional.

Las cápsulas tales como aquellas divulgadas en el documento de solicitud de patente internacional, International Patent Application No. WO 02/12888 A2 liberan cantidades muy grandes cantidades de materiales fluorescentes o fosforescentes cuando están activadas. Es decir, las cápsulas contienen miles de millones de moléculas del material fluorescente o fosforescente, con el resultado que los ensayos que emplean estas cápsulas pueden ser muy sensibles debido a que la intensidad de la luz emitida puede ser de muchos órdenes de magnitud por encima de otros ensayos que utilizan materiales fluorescentes o fosforescentes no encapsulados. Cada cápsula es potencialmente capaz de transformarse vinculada a una sola molécula del material objetivo en la solución de analito. Entonces, cuando el material fluorescente o fosforescente es liberado de la cápsula vinculada, muchos miles de millones de moléculas generadoras de señal son liberadas para cada molécula del material objetivo. Por lo tanto, el ensayo es altamente sensible a incluso pequeñas cantidades material objetivo.

Por ejemplo, para las cápsulas que contienen la FDA, está conjeturado que es este alto grado de fluorescencia generado por las cápsulas que contienen la FDA cuando están activadas lo que permite que las cápsulas que contienen la FDA que sean empleadas en un dispositivo de ensayo de acuerdo con una realización de la presente invención empleando filtros ópticos relativamente baratos y de bajo rendimiento ubicados en un componente consumible tal como el dispositivo de ensayo. De acuerdo con el documento de patente U.S. No. 7.796.266 mencionado más arriba, es un giro grande de Stokes, por ejemplo de 100 nm a 350 nm, lo que minimiza la necesidad de filtros costosos, de alta precisión en la detección óptica con el fin de eliminar la interferencia del fondo. Sin embargo, la fluoresceína empleada de acuerdo con una realización de la presente invención tiene un giro de Stokes de unos 25 a 28 nm.

De hecho, el uso de etiquetas fluorescentes o fosforescentes y especialmente las etiquetas formadas a partir de las capsulas que contienen FDA mencionadas más arriba, puede tener el efecto que el dispositivo de ensayo puede exhibir un espectro de absorción de fluoresceína cuando está expuesto a la luz blanca o ambiente. De esta manera, de acuerdo con aún otro aspecto, un realización del método de acuerdo con la invención incluye el paso de iluminación del dispositivo de ensayo desde un lado con la luz blanca o ambiente y viendo el dispositivo del otro lado con el fin de detectar las bandas de absorción en el camino causadas por la absorción de la luz por el material fluorescente de la etiqueta. En este método no es necesario usar un lector con una fuente dedicada de luz y detector. Tampoco es necesario incluir algún segundo filtro óptico en el lado del dispositivo que está iluminado aunque ello puede ser ventajoso con el fin de reducir la intensidad de la luz que pasa a través del dispositivo de ensayo que no está afectado por la absorción por el material fluorescente o fosforescente y de esta manera aumentar la proporción de luz que es absorbida por el material fluorescente o fosforescente.

La capacidad de las moléculas que generan la señal encapsulada para generar señales detectables para las concentraciones extremadamente bajas concentraciones del material objetivo proporciona una utilidad excepcional para el dispositivo de ensayo de la presente invención. Cuando tales moléculas que generan la señal encapsulada son incorporadas a o utilizadas con el dispositivo de ensayo, pueden ser hechas las determinaciones de punto de atención incluso a pesar de que el usuario no tenga acceso a un lector. Por lo tanto, el dispositivo puede ser utilizado en lugares remotos, en aplicaciones de campo o en cualesquiera circunstancias en donde no está disponible el acceso a un lector.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de ensayo independiente (1) para permitir que sea realizada una prueba sobre un analito, teniendo el dispositivo de ensayo (1) una zona de aplicación (14) para la aplicación de una cantidad del analito, una zona de residuos (12) y un camino (10) para permitir el paso del analito desde la zona de aplicación (14) a la zona de residuos (12), teniendo el dispositivo de ensayo (1) una primera tapa (6) en un primer lado del camino (10) y una segunda tapa (8) en un segundo lado del camino (10) opuesto al primer lado;
- 5
- Proporcionando la primera tapa (6) un primer filtro óptico para permitir la transmisión de la luz emitida o modificada por un material de la etiqueta y para bloquear la luz de por lo menos un rango distinto de longitud de onda; y
- 10
- Formando la segunda tapa (8) un segundo filtro óptico, el segundo filtro óptico que tiene una característica de transmisión óptica diferente de la del primer filtro óptico;
- incluyendo el dispositivo de ensayo (1) una cantidad del material de la etiqueta que emitirá o modificará la luz por lo menos cuando está activado y el cual se unirá al analito, incluyendo también el camino (10) una zona de captura (18) localizada entre la zona de aplicación (14) y la zona de residuos (12) que tiene una cantidad de material de captura que está vinculada al camino (10) y que se unirá al analito que pasa a lo largo del camino (10) de tal manera que el analito será enlazado al camino (10), estando adaptado el dispositivo de ensayo (1) para ser iluminado desde dicho segundo lado del camino, por una fuente de luz (32) separada del dispositivo de ensayo (1) de tal manera que la luz emitida o modificada por el material de la etiqueta localizado en el camino (10) es detectable en el primer lado del camino.
- 15
- 20
2. Un dispositivo de ensayo (1) tal como se reivindica en la reivindicación 1, en donde cada una de las tapas primaria y secundaria (6, 8) consta de una sola pieza de material plástico.
- 25
3. Un dispositivo de ensayo (1) tal como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el primer filtro óptico y el segundo filtro óptico bloquean en conjunto sustancialmente toda la luz.
- 30
4. Un dispositivo de ensayo (1) tal como se reivindica en la reivindicación 1 en donde el segundo filtro óptico permitirá la transmisión de luz con una longitud de onda más corta que la luz transmitida por el primer filtro óptico.
5. Un dispositivo de ensayo (1) tal como se reivindica en la reivindicación 4 en donde el material de la etiqueta es un material fluorescente o fosforescente o un precursor de los mismos y el primer filtro óptico permitirá la transmisión de la luz sólo después de la modificación por el material de la etiqueta.
- 35
6. Un dispositivo de ensayo (1) tal como se reivindica en la reivindicación 1 en donde el primer filtro óptico permitirá la transmisión de la luz con unas longitudes de onda diferentes que corresponden a luz emitida o modificada por materiales de etiqueta diferentes.
- 40
7. Un dispositivo de ensayo (1) tal como se reivindica en la reivindicación 1 que incluye una pluralidad de caminos (10) que se extienden de manera general en paralelo uno con el otro desde una zona de aplicación (14) a una zona de residuos (12), conteniendo los caminos (10) diferentes materiales para permitir realizar una prueba en una pluralidad de diferentes analitos.
- 45
8. Una configuración para realizar un ensayo, que comprende un dispositivo de ensayo (1) tal como el reivindicado en la reivindicación 1 y un lector (2) para la detección de una salida del dispositivo de ensayo (1), comprendiendo dicho lector (2) un cuerpo que tiene un orificio (35) que es capaz de recibir el dispositivo de ensayo (1), una fuente de luz (32) para iluminar el dispositivo de ensayo (1) desde dicho segundo lado del mismo una vez que esta ha sido recibida en el lector (2), un terminal para recibir una fuente de alimentación de energía (36) para la fuente de luz (32), un detector óptico (34) localizado en el cuerpo para detectar la luz que ha sido emitida desde el primer lado del dispositivo de ensayo y un detector (38, 42) para detectar la potencia óptica de luz detectada por el detector óptico (34).
- 50
9. Un método de realizar una prueba en un analito por medio de un dispositivo de ensayo independiente (1) que tiene una zona de aplicación (14) para la aplicación del analito, una zona de residuos (12) y un camino (10) para permitir el paso del analito de la zona de aplicación (14) a la zona de residuos (12), teniendo el dispositivo de ensayo (1) una primera tapa (6) en un primer lado del camino (10) y una segunda tapa (8) en un segundo lado del camino (10) opuesta al primer lado, el camino (10) también incluye una zona de captura (18) situada entre la zona de aplicación (14) y la zona de residuos (12) que tiene una cantidad de material de captura que está vinculada al camino (10) y que se unirá a cualquier analito, método que comprende:
- 55
- 60
- La aplicación de una cantidad del analito a la zona de aplicación (14) y permitiendo pasar al analito a lo largo del camino (10) y más allá de una zona de captura (18) donde el camino (10) incluye una cantidad de material de captura que unirá el analito al camino (10);
- 65
- Causando que el analito contacte ya sea antes o después de que él mismo ha llegado a la zona de captura (18), una cantidad de un material de la etiqueta que emitirá o modificará la luz por lo menos cuando está activado y el cual unirá al analito, de tal manera que el analito y el material de la etiqueta

estarán vinculados al camino (10) en la zona de captura (18),

La aplicación de una cantidad de un lavado a la zona de aplicación (14) con el fin de causar que fluyan el exceso de analito y del material de la etiqueta a lo largo del camino (10) a la zona de residuos (12); y

5 La iluminación del dispositivo de ensayo (1) desde el segundo lado del camino y

La detección de la luz que es emitida o modificada por el material de la etiqueta desde el primer lado del camino, proporcionando dicha primera tapa (6) del dispositivo de ensayo (1) un primer filtro óptico para permitir la transmisión de la luz emitida o modificada por el material de la etiqueta y para bloquear la luz de por lo menos un rango distinto de longitud de onda de tal manera que la detección de la luz indicará la presencia o cantidad del analito y formando dicha segunda tapa del dispositivo de ensayo (1) un segundo filtro óptico que tiene una característica de transmisión óptica diferente de aquella del primer filtro óptico.

- 10
- 15 **10.** Un método tal como se reivindica en la reivindicación 9, en donde cada una de las tapas primeras y segunda (6, 8) consta de una pieza única de material plástico.
- 11.** Un método tal como se reivindica en la reivindicación 9, en donde el primer filtro óptico y el segundo filtro óptico bloquean sustancialmente, de manera conjunta, toda la luz.
- 20 **12.** Un método tal como se reivindica en la reivindicación 9 que comprende la inserción del dispositivo de ensayo (1) en un lector (2) para detectar una salida desde el dispositivo de ensayo (1), comprendiendo el lector (2) un cuerpo con un orificio (35) que es capaz de recibir el dispositivo de ensayo (1), una fuente de luz (32) para iluminar el dispositivo de ensayo (1) desde dicho segundo lado del mismo una vez que ella ha sido recibida en el lector (2) , un detector óptico (34) situado en el cuerpo para detectar la luz que ha sido emitida desde el primer lado del dispositivo de ensayo (1), y una configuración (38, 42) para la detección de la potencia óptica de la luz detectada por el detector óptico (34).
- 25
- 13.** Un método tal como se reivindica en la reivindicación 9 que comprende la iluminación del dispositivo de ensayo (1) con luz blanca desde dicho segundo lado del mismo y observando desde el primer lado del mismo con el fin de determinar la presencia o cantidad de analito desde el material de la etiqueta.
- 30
- 14.** Un método tal como se reivindica en la reivindicación 13 en donde la luz blanca es la luz ambiente.
- 15.** Un método tal como se reivindica en la reivindicación 13 ó en la reivindicación 14 en donde el material de la etiqueta se compone de un material fluorescente o fosforescente.
- 35

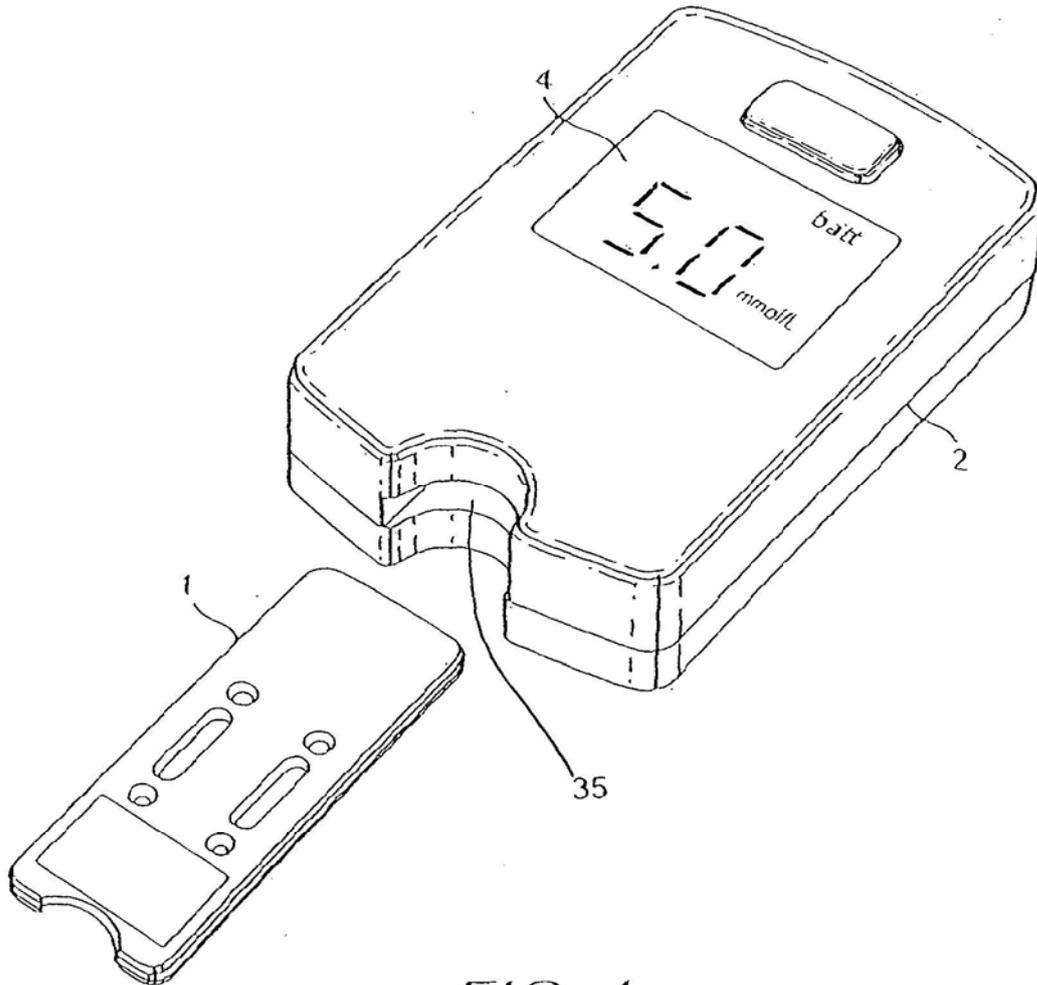


FIG. 1

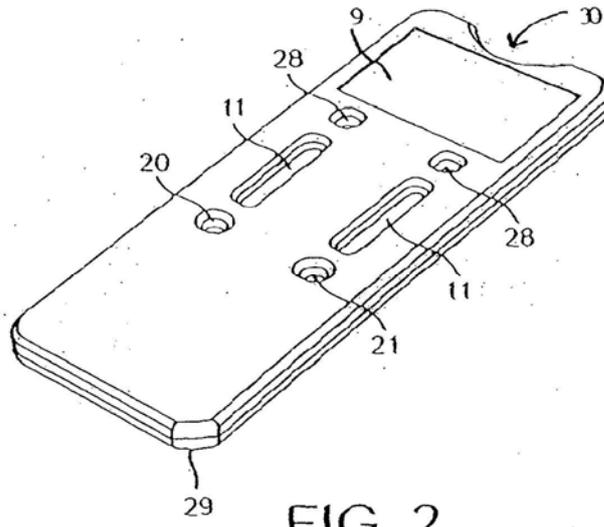


FIG. 2

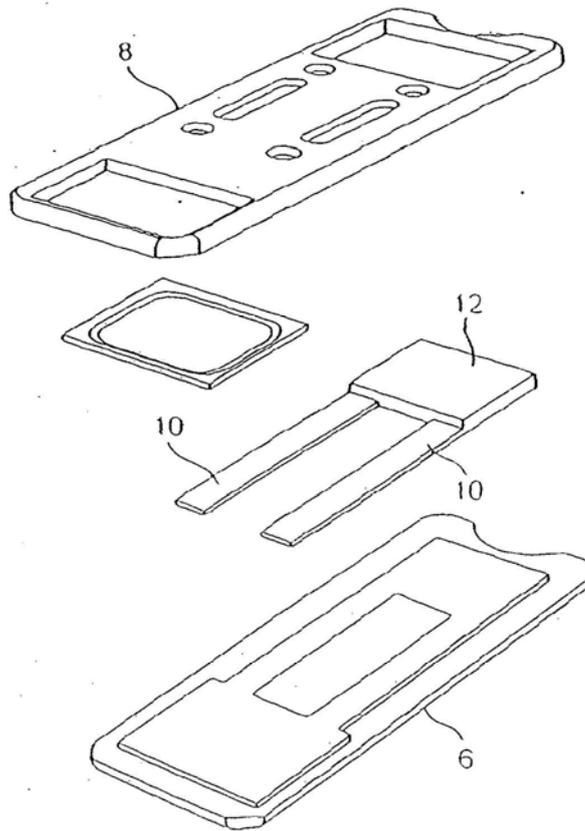


FIG. 3

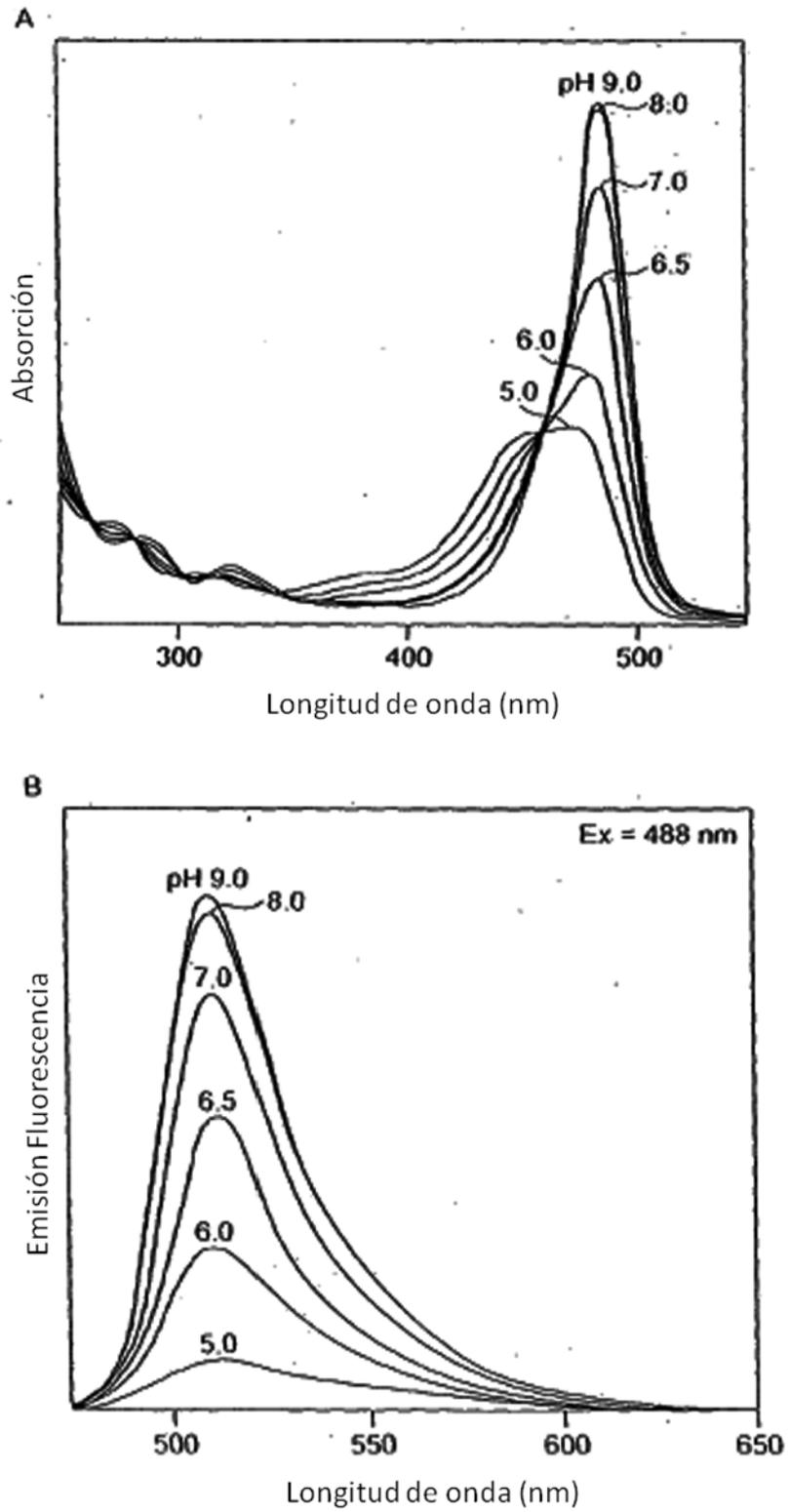


FIG. 4

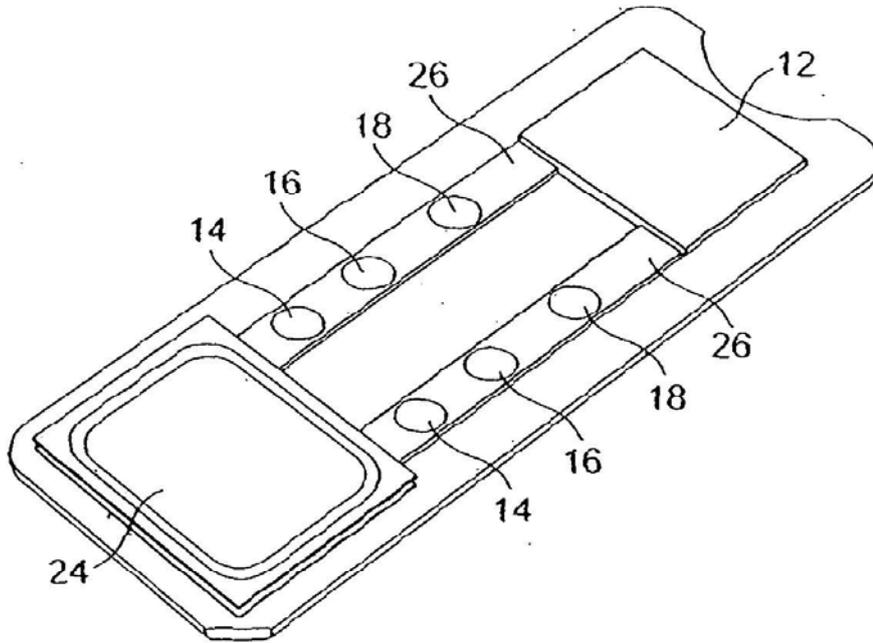


FIG. 5

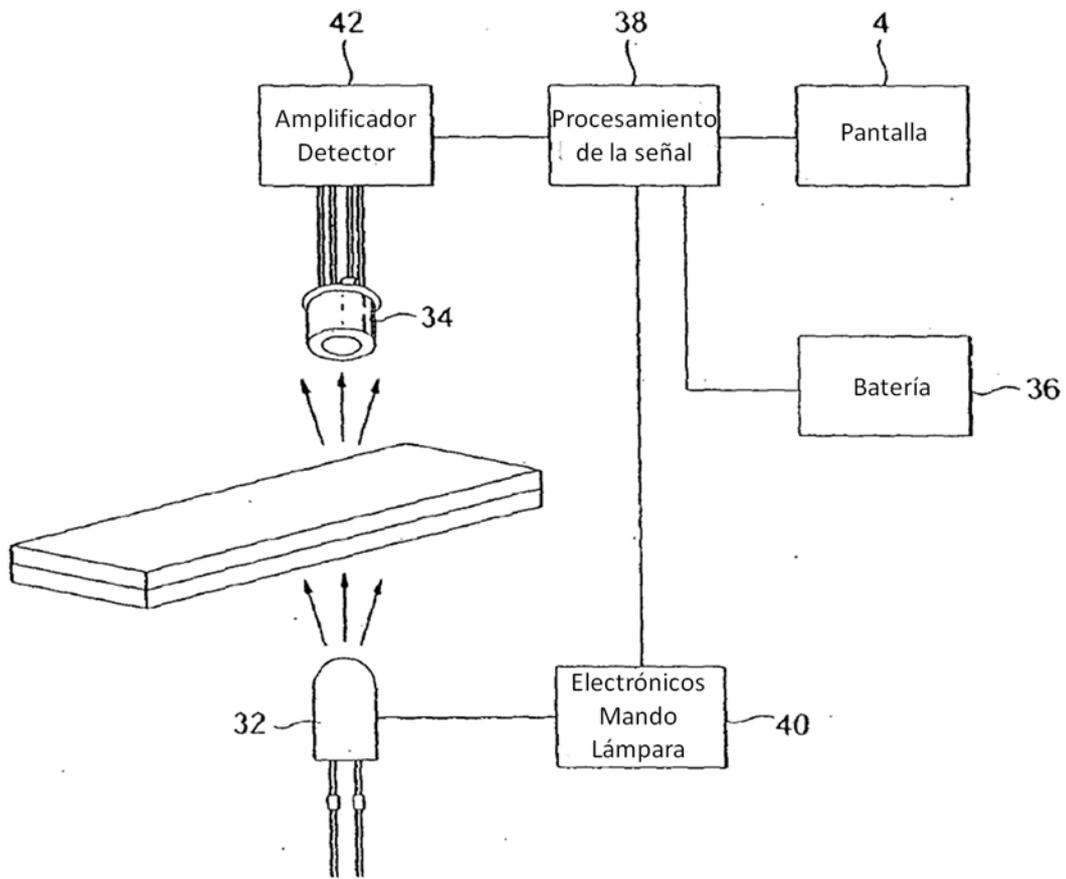


FIG. 6

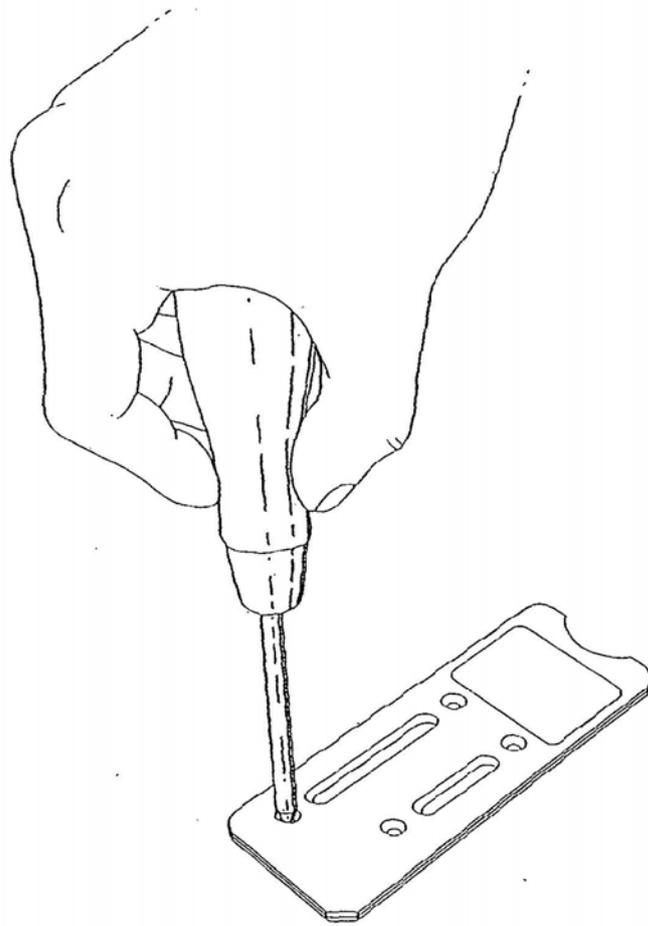


FIG. 7

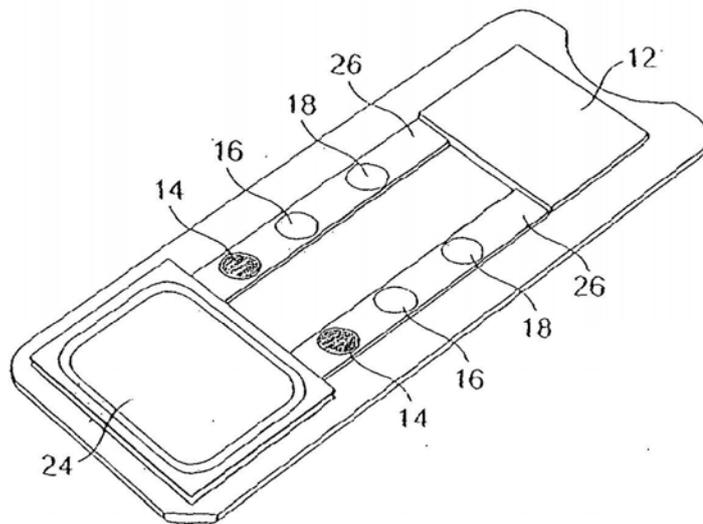


FIG. 8

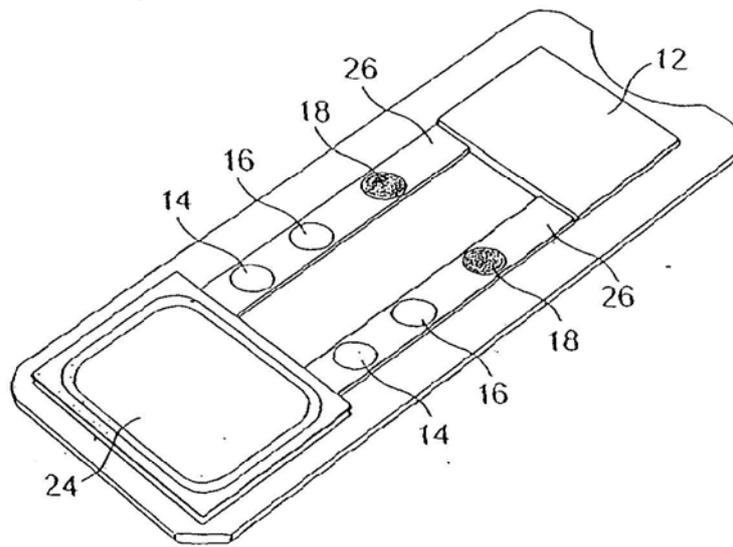


FIG. 9