

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 572 648**

51 Int. Cl.:

**G01N 21/84** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.08.2008 E 08252756 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.03.2016 EP 2031376**

54 Título: **Dispositivo de análisis con zonas compartidas**

30 Prioridad:

**01.09.2007 GB 0717045**  
**31.05.2008 GB 0809994**  
**30.11.2007 US 991543 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**01.06.2016**

73 Titular/es:

**ALERE SWITZERLAND GMBH (100.0%)**  
**BAHNHOFSTRASSE 28**  
**6300 ZUG, CH**

72 Inventor/es:

**SHARROCK, STEPHEN PAUL**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 572 648 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 análisis con zonas compartidas

## CAMPO DEL INVENTO

5 El presente invento se refiere a un dispositivo y método de análisis para determinar la presencia o cantidad de un analito. En particular se refiere a la determinación de un analito a lo largo de un rango de concentración extendido.

## ANTECEDENTES DEL INVENTO

10 Se han desarrollado y comercializado dispositivos simples de análisis inmunológico de flujo lateral para la detección de analitos en muestras de fluido, véase por ejemplo el documento EP291194. Tales dispositivos comprenden típicamente un portador poroso que comprende un reactivo de unión marcado que se puede mover secado capaz de unirse al analito en cuestión, y un reactivo de unión inmovilizado también capaz de unirse al analito previsto en una zona de detección aguas abajo del reactivo de unión marcado. La detección del reactivo de unión marcado inmovilizado en la zona de detección proporciona una indicación de la presencia de analito en la muestra.

15 Alternativamente, cuando el analito de interés es un hapteno, el dispositivo de análisis inmunológico puede emplear una reacción de competencia en la que un analito marcado o un analito análogo compite con un analito presente en la muestra para un reactivo de unión inmovilizado en una zona de detección. Alternativamente el dispositivo de análisis puede emplear una reacción de inhibición por lo que un analito inmovilizado o un analito análogo es proporcionado en una zona de detección, comprendiendo el dispositivo de análisis un reactivo de unión marcado que se puede mover para el analito.

20 Un dispositivo de análisis puede determinar más de un analito. Por ejemplo en el caso de análisis para determinar la presencia de drogas de abuso, el dispositivo puede ser capaz de determinar todo un panel de drogas. Tales dispositivos de análisis inmunológico de flujo lateral están provistos con múltiples zonas de detección, estando previstas tales zonas en uno o en múltiples portadores de flujo lateral.

25 La determinación del resultado del análisis se ha llevado a cabo tradicionalmente a simple vista. Sin embargo tales dispositivos requieren que el resultado sea interpretado por el usuario lo que introduce un grado indeseable de subjetividad.

30 Como tal, se han desarrollado dispositivos digitales que comprenden un medio de detección óptico dispuesto para determinar el resultado del análisis así como un medio de visualización para visualizar el resultado del análisis. Se conocen lectores de análisis digitales para utilizar en combinación con tiras de ensayo de análisis para determinar la concentración y/o cantidad de analito en una muestra de fluido como lo son los dispositivos de análisis que comprenden un lector de análisis digital integral.

35 Luz procedente de una fuente de luz, tal como un diodo emisor de luz (LED), es hecha brillar sobre una parte del portador poroso y la luz o bien reflejada o bien transmitida es detectada por un fotodetector. Típicamente, el lector tendrá más de un LED para iluminar diferentes zonas del portador, y se ha previsto un fotodetector correspondiente para cada uno de la pluralidad de los LED. El documento EP1484601 describe una disposición óptica para un dispositivo de lectura digital de tira de ensayo de flujo lateral que comprende una disposición de deflector que permite la posibilidad de reducir el número de fotodetectores en el dispositivo.

Los documentos US 2007/0081920, US 2005/0208593 y DE 10 2006 003 380 describen un dispositivo de análisis que tiene una o más tiras de ensayo de análisis.

40 Tales dispositivos son a menudo diseñados para ser de un solo uso y por lo tanto es deseable mantener los costes de tales dispositivos tan bajos como sea posible, especialmente donde están involucrados componentes ópticos y electrónicos caros.

## RESUMEN DEL INVENTO

45 Es un objeto de acuerdo con un aspecto del invento proporcionar un dispositivo de análisis de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene una o más zonas compartidas que permiten una reducción en el número de componentes ópticos que son requeridos para un dispositivo de análisis que comprende dos o más trayectorias de flujo de análisis.

De acuerdo con un primer aspecto, el dispositivo proporciona un dispositivo de análisis para determinar la presencia y/o cantidad de uno o más analitos en una muestra de líquido que comprende:

50 a) un primer y segundo análisis que comprenden cada uno una trayectoria de flujo que tiene una zona de detección para inmovilizar un reactivo de unión marcado, en que la detección de un reactivo de unión marcado en una o ambas zonas de detección es indicativa de la presencia y/o cantidad de uno o más analitos;

b) una zona de referencia compartida;

c) una o más fuentes de luz para iluminar las zonas de detección y la zona de referencia;

d) uno o más fotodetectores para detectar luz procedente de las zonas de detección y de la zona de referencia, cuyo fotodetector o fotodetectores generan una señal, la magnitud de cuya señal está relacionada con la cantidad de luz detectada; y

5 e) medios de tratamiento de señal para tratar señales procedentes del fotodetector o fotodetectores.

Es otro objeto del dispositivo proporcionar un lector de análisis para utilizar con una o más tiras de ensayo de análisis que comprenden dos o más trayectorias de flujo de análisis, teniendo el lector de análisis una reducción en el número de componentes ópticos que son típicamente requeridos.

10 De acuerdo con un segundo aspecto, el dispositivo proporciona un lector de análisis para leer el resultado del primer y segundo análisis que comprenden cada uno una trayectoria de flujo, comprendiendo cada trayectoria de flujo una zona de detección para inmovilizar el reactivo de unión marcado, en la que la detección del reactivo de unión marcado en una o ambas zonas de detección es indicativa de la presencia y/o cantidad de uno o más analitos, y una zona de referencia compartida; comprendiendo dicho lector de análisis:

a) una o más fuentes de luz para iluminar las zonas de detección, y la zona de referencia compartida;

15 b) uno o más fotodetectores para detectar luz procedente de las zonas de detección y de la zona de referencia, cuyo fotodetector o fotodetectores generan una señal, la magnitud de cuya señal está relacionada con la cantidad de luz detectada; y

20 medios de tratamiento de señal para tratar señales procedentes del fotodetector o fotodetectores, en que la señal obtenida procedente de la zona de referencia compartida es utilizada para compensar los valores de las señales obtenidas procedentes de las zonas de detección.

Preferiblemente los análisis en los que el lector es operativo para leer son realizados sobre una o más tiras de ensayo de análisis que comprenden primera y segunda trayectorias de flujo que comprenden cada una una respectiva de dichas zonas de detección.

25 El primer y/o segundo análisis pueden comprender un reactivo de unión marcado proporcionado en una forma que se puede mover aguas arriba de la zona de detección en un estado seco antes de la utilización del dispositivo.

30 La zona de referencia compartida puede estar comprendida como parte o bien del primer o bien del segundo análisis. Alternativamente la zona de referencia puede estar prevista en una trayectoria de flujo subsidiaria al primer y segundo análisis. La zona de referencia puede ser elegida a partir de una parte de la trayectoria de flujo que no corresponde a una zona de detección, o cuando un reactivo marcado secado está presente aguas arriba de la zona de detección, de una parte que no corresponde a donde está presente el reactivo marcado secado. La zona de referencia puede estar prevista aguas abajo o aguas arriba de la zona de detección. La medición de la zona de referencia permite la medición de los niveles de fondo de luz reflejada o transmitida desde la trayectoria de flujo. El nivel de fondo puede estar afectado, por ejemplo, por la reflectancia óptica del portador poroso, la presencia de muestra de líquido, o de componentes del análisis tales como un reactivo de unión marcado. Los niveles de luz medida en la zona de detección pueden por lo tanto ser corregidos con respecto a los niveles de luz de fondo para proporcionar una señal compensada más exactamente indicativa de la cantidad de reactivo de unión marcado presente en la zona de detección. La medición en la zona de referencia también compensa cualquier variación entre muestras de fluido aplicadas a dispositivos de análisis, por ejemplo muestras de orina pueden variar ampliamente de color. El valor de la señal obtenida en la zona de referencia para un análisis es utilizado para compensar el valor de la señal obtenida en la zona de detección para el otro análisis. Como tal la zona de referencia es "compartida" entre ambos análisis. La previsión de una zona de referencia compartida puede reducir el número de componentes requeridos para el dispositivo de análisis, ya que cada zona de referencia requeriría típicamente una fuente de luz.

45 El concepto de una zona de referencia compartida es bastante contrario a la intuición. El propósito de una medición de referencia es permitir variaciones en las lecturas de fondo de señales que pueden surgir, entre otras cosas, como un resultado de variaciones en la composición de un reactivo o de una tira de ensayo. Por consiguiente, la práctica normal es utilizar una zona de referencia separada en cada análisis, de manera que pueda hacerse una medición de referencia "dedicada" para cada análisis. Los presentes inventores han encontrado, sin embargo, que se puede prescindir de zonas de referencia separadas y en su lugar será suficiente una sola zona de referencia compartida.

50 La fuente de luz es convenientemente un LED. Puede emplearse una pluralidad de LED. En una realización cada zona en el análisis (zona de detección, de referencia o de control) es iluminada por un LED respectivo. Uno o más fotodetectores pueden comprender convenientemente un fotodiodo. En una realización preferida se emplea un solo fotodiodo u otro fotodetector. En una realización hay cuatro LED y un solo fotodiodo.

El dispositivo de análisis puede comprender además una zona de control que puede ser una sola zona de control prevista como parte del primer o del segundo análisis. Alternativamente la zona de control puede ser prevista en una

trayectoria de flujo subsidiaria al primer y segundo análisis. La previsión de una sola zona de control reduce aún más el número de fuentes de luz que se necesitan. El propósito de la zona de control es indicar que el análisis se ha llevado a cabo correctamente, en particular que la muestra de fluido ha sido aplicada al dispositivo y que el reactivo de unión marcado se ha movido a lo largo de la trayectoria de flujo en una cierta magnitud. La zona de control puede estar prevista aguas abajo de la zona de detección. Una zona de control adecuada está descrita en el documento EP291194 y puede comprender un reactivo de unión inmovilizado para un reactivo de unión marcado. Una población separada de reactivo de unión marcado puede estar prevista aguas arriba de las zonas de detección y control en las que dicha población separada de reactivo de unión marcado es capaz de ser inmovilizada en la zona de control pero no resulta inmovilizada en la zona de detección en presencia o ausencia de analito. La zona de control es típicamente prevista aguas abajo de la zona de detección. La señal obtenida en la zona de control también puede estar referenciada con respecto a la señal obtenida en la zona de referencia.

Esta medición de la señal en la zona de control proporciona un valor o indicación de que el ensayo se ha llevado a cabo correctamente (o incorrectamente) para ese análisis. Si por ejemplo, la zona de control indica que el ensayo se ha llevado a cabo correctamente para un análisis, se hace una suposición de que el ensayo se ha llevado a cabo correctamente en el otro análisis. Por lo tanto la zona de control puede ser considerada como estando "compartida" entre los análisis del dispositivo de análisis. Como en el caso de una zona de referencia compartida, la previsión de una zona de control única o compartida permite utilizar un número reducido de componentes ópticos en el dispositivo. La razón para hacer esta suposición es que es muy probable que si la muestra de líquido ha sido aplicada a una trayectoria de flujo de análisis, esa muestra de líquido ha sido aplicada a la trayectoria de flujo, especialmente así si las dos trayectorias de flujo de análisis están conectadas, por ejemplo por un medio de recepción de muestra común, por ejemplo un receptor de muestra poroso. Además, si el dispositivo de análisis ha sido sometido, por ejemplo, a condiciones, tales como la entrada de humedad que pueden dar como resultado, por ejemplo, una pobre nueva suspensión de los reactivos que se pueden mover, o temperatura elevada que puede desnaturalizar los reactivos de unión, es probable que ambas trayectorias de flujo resulten afectadas. Como en el caso de una zona de referencia compartida, el concepto de una zona de control compartida también es contrario a la intuición. La señal en la zona de control es calculada con respecto a la señal en la zona de referencia.

Las zonas de control y referencia pueden estar previstas como parte del mismo análisis o previstas como parte de diferentes análisis. En una realización ejemplar, las zonas de referencia compartida y control están previstas cada una en análisis separados, por ejemplo, un análisis comprende una zona de detección y una zona de referencia, y el otro análisis comprende una zona de detección y una zona de control.

De acuerdo con un tercer aspecto el dispositivo proporciona un dispositivo de análisis para determinar la presencia y/o cantidad de uno o más analitos en una muestra de líquido que comprende:

- a) un primer y segundo análisis que comprenden cada uno una trayectoria de flujo que tiene una zona de detección para inmovilizar un reactivo de unión marcado, en la que la detección de un reactivo de unión marcado en una o ambas zonas de detección es indicativa de la presencia y/o cantidad de uno o más analitos;
- b) una zona de control compartida;
- c) una o más fuentes de luz para iluminar las zonas de detección y la zona de control;
- d) uno o más fotodetectores para detectar luz procedente de las zonas de detección y de la zona de control, cuyo fotodetector o fotodetectores generan una señal, la magnitud de cuya señal está relacionada con la cantidad de luz detectada; y
- e) medios de tratamiento de señal para tratar señales procedentes del fotodetector o fotodetectores.

De acuerdo con un cuarto aspecto, el dispositivo proporciona un lector de análisis para leer el resultado del primer y segundo análisis comprendiendo cada uno:

una trayectoria de flujo, comprendiendo cada trayectoria de flujo una zona de detección para inmovilizar el reactivo de unión marcado, en que la detección del reactivo de unión marcado en una o ambas zonas de detección es indicativa de la presencia y/o cantidad de uno o más analitos; y

una zona de control compartida;

comprendiendo dicho lector de análisis:

- a) una o más fuentes de luz para iluminar las zonas de detección, y la zona de control compartida;
- b) un umbral de señal de control almacenado
- c) uno o más fotodetectores para detectar luz procedente de las zonas de detección y de la zona de control, cuyo fotodetector o fotodetectores generan una señal de control y señales de detección, la magnitud de cuyas

señales está relacionada con la cantidad de luz detectada; y

- d) medios de tratamiento de señal para tratar señales procedentes del fotodetector o fotodetectores y para comparar la señal obtenida procedente de la zona de control al umbral de control de señal, y para determinar que ambos análisis se han llevado a cabo correctamente si la señal de control es igual o mayor que el umbral de señal de control.

5

El dispositivo y lector de análisis de acuerdo con el primer, segundo y tercer aspectos del dispositivo puede comprender un umbral de señal de control.

10

El umbral de señal de control puede estar almacenado en el dispositivo o lector. La señal medida desde la zona de control puede ser comparada al umbral de señal de control para determinar si ha resultado inmovilizado suficiente reactivo de unión marcado en dicha zona. Si el valor de la señal de control es igual o sobrepasa el umbral de señal de control, el dispositivo o lector puede determinar que el análisis se ha llevado a cabo satisfactoriamente. Si la señal de control es menor que el umbral de señal de control, el dispositivo o lector puede determinar que el análisis no se ha llevado a cabo satisfactoriamente y proporcionará un mensaje de error.

La señal detectada desde la zona de control puede estar referida a una señal obtenida desde una zona de referencia.

15

Un dispositivo de análisis de acuerdo con el tercer aspecto también puede comprender una zona de referencia compartida.

El primer y/o segundo análisis pueden comprender convenientemente un reactivo de unión para un analito o un reactivo de unión marcado proporcionado en una forma inmovilizada en la zona de detección.

20

Empleando una referencia compartida y/o una zona de control compartida, el dispositivo de análisis proporciona un número reducido de zonas que necesitan ser interrogadas y por consiguiente el número de componentes ópticos que necesitan ser empleados. La utilización de zonas compartidas es más eficaz cuando las arquitecturas de análisis del primer y segundo análisis son muy similares o, si la zona de referencia y/o control está prevista en una o más trayectorias de flujo subsidiarias, cuando la arquitectura de análisis de las una o más trayectorias de flujo subsidiarias es similar al primer y segundo análisis. Así, por ejemplo, los análisis comprenderán típicamente ambos portadores porosos de material similar (por ejemplo, ambos comprenden portadores de nitrocelulosa). También es ventajoso utilizar la misma muestra de líquido para cada análisis. Esto puede lograrse convenientemente previendo una región de aplicación de muestra común que está en comunicación fluida con ambos análisis. Así una sola muestra de líquido aplicada al dispositivo a través de la región de aplicación de muestra común puede fluir a través tanto del primer como del segundo análisis. En casos en los que el primer y segundo análisis no son idénticos, puede ser aceptable prever una zona de referencia compartida siempre que los niveles de fondo de luz que serían detectados en cada análisis sean suficientemente similares entre sí.

25

30

Los medios de tratamiento de señal pueden comprender una unidad de procesador central que es capaz de tratar las señales obtenidas procedentes de los fotodetectores de las zonas respectivas y de calcular valores obtenidos en la zona de ensayo con respecto a la zona de referencia. Los datos de medición pueden ser tomados en diferentes momentos durante el análisis y pueden ser tomados después de que se haya activado el dispositivo pero antes de que la muestra de fluido haya sido aplicada al dispositivo, con el fin de obtener valores ópticos de transmisión o reflectancia de luz en el estado seco.

35

40

Un "sumidero" absorbente puede estar previsto en el extremo distal de las trayectorias de flujo de análisis. Un sumidero común puede estar previsto o puede estar previsto un sumidero en el extremo distal de cada análisis. El sumidero absorbente puede comprender preferiblemente un material muy absorbente tal como, por ejemplo, papel Whatman CF7, y debería proporcionar suficiente capacidad de absorción para eliminar cualquier conjugado no unido de la proximidad de las zonas de detección, la zona de referencia y la zona de control. Como una alternativa a tal sumidero puede ser suficiente tener una longitud de material poroso en fase sólida que se extiende más allá de la zona de detección. Una ventaja de proporcionar un sumidero muy absorbente es que elimina o elimina sustancialmente el reactivo de unión marcado sobrante de las trayectorias de flujo de los análisis respectivos. Esto tiene el efecto de minimizar la cantidad de reactivo de unión marcado no unido en la proximidad de zonas respectivas y por lo tanto permite trayectorias de flujo de análisis que han de ser empleadas en el dispositivo que pueden tener diferentes cantidades de reactivo de unión marcado.

45

50

Como una alternativa a prever un reactivo de unión inmovilizado en la zona de detección, el reactivo de unión puede estar previsto en una forma que se puede mover que es capaz de unirse a un complejo reactivo de unión de analito marcado. Por ejemplo el reactivo de unión puede ser conjugado con una partícula grande tal como agarosa y la zona de detección puede comprender un filtro cuyo tamaño de poro tiene dimensiones más pequeñas que la partícula grande, pero mayores que el tamaño del reactivo de unión marcado, de tal manera que el filtro es capaz de atrapar cualquier complejo marcado de reactivo de unión/analito/reactivo de unión presente, siendo capaz cualquier reactivo de unión marcado que no está unido de forma compleja al reactivo de captura de pasar a través del filtro. Aún alternativamente un reactivo puede estar previsto en una forma inmovilizada en la zona de detección que es capaz de unir un complejo

55

marcado que se puede mover de reactivo de unión/analito/reactivo de unión. Por ejemplo el reactivo de unión puede estar previsto en una forma que se puede mover y conjugado a una especie de aglutinante tal como biotina, siendo el reactivo inmovilizado en la zona de detección un asociado de unión complementario tal como estreptavidina.

5 El dispositivo de análisis puede emplear un análisis inmunológico de tipo sándwich y/o un análisis competitivo/de inhibición para la determinación de un analito. Un ejemplo de un análisis inmunológico de tipo sándwich es aquel en el que se forma un complejo marcado de reactivo de unión/analito/reactivo de unión. El dispositivo comprenderá típicamente un reactivo de unión marcado para el analito en una forma que se puede mover previsto aguas arriba de una zona de detección que comprende un reactivo de unión inmovilizado para el analito. Alternativamente, en particular cuando el analito de interés es un hapteno, el dispositivo de análisis inmunológico puede emplear una reacción de competencia en la que un analito marcado o un análogo de analito marcado compite con un analito presente en la muestra para un reactivo de unión inmovilizado en una zona de detección. El analito marcado o un análogo de analito marcado puede estar previsto en una forma que se puede mover aguas arriba de la zona de detección. Aún alternativamente el dispositivo de análisis puede emplear una reacción de inhibición en la que un analito inmovilizado o un análogo de analito está previsto en la zona de detección, comprendiendo el dispositivo de análisis un reactivo de unión marcado que se puede mover para el analito.

10 El término "trayectoria de flujo" se refiere a un sustrato que es capaz de transportar un líquido desde una primera posición a una segunda posición y puede ser por ejemplo un canal capilar, una trayectoria de micro fluidos, o un portador poroso tal como un portador poroso de flujo lateral. El portador poroso puede comprender uno o una pluralidad de materiales de portador poroso que pueden solaparse en una disposición lineal o apilada o que están conectados de manera fluida. Los materiales del portador poroso pueden ser los mismos o diferentes. El primer y segundo análisis pueden estar previstos en sustratos separados o pueden estar previstos en un sustrato común de tal manera que el líquido que está siendo transportado a lo largo de la trayectoria de flujo del primer análisis no es capaz de cruzar la trayectoria de flujo del segundo análisis. Por ejemplo, el primer y segundo análisis pueden estar previstos en el mismo portador poroso de tal manera que la primera y segunda trayectorias de flujo estén aisladas entre sí. Esto puede lograrse por ejemplo cortando con láser partes del portador poroso para hacerle no poroso, separando así el primer y segundo análisis. Alternativamente, un material de bloqueo no poroso puede ser aplicado a lo largo de una tira para proporcionar dos trayectorias de flujo (de manera típica esencialmente paralelas) en el mismo portador poroso.

20 En particular la trayectoria de flujo puede ser un portador poroso de flujo lateral. Materiales adecuados que pueden ser empleados como un portador poroso incluyen nitrocelulosa, fibra de acetato, celulosa o derivados de la celulosa, poliéster, poliolefinas o fibra de vidrio. El portador poroso puede comprender nitrocelulosa. Esto tiene la ventaja de que un reactivo de unión puede ser inmovilizado firmemente sin un tratamiento químico previo. Si el material poroso en fase sólida comprende papel, por ejemplo, la inmovilización del anticuerpo en la segunda zona necesita ser realizada por acoplamiento químico utilizando, por ejemplo, CNBr, carbonildiimidazol, o cloruro de tresilo.

25 El término "reactivo de unión" se refiere a un miembro de un par de unión, es decir, dos moléculas diferentes en que una de las moléculas se une con la segunda molécula a través de medios químicos y/o físicos. Las dos moléculas están relacionadas en el sentido de que su unión entre ellas es de tal manera que son capaces de distinguir su asociado de unión de otros constituyentes de análisis que tienen características similares. Los miembros del par de unión son referidos como ligando y receptor (anti-ligando), un miembro de par de unión y un asociado de par de unión, y similares. Una molécula también puede ser un miembro de par de unión para una agregación de moléculas; por ejemplo un anticuerpo producido contra un complejo inmune de un segundo anticuerpo y su antígeno correspondiente pueden ser considerados como un miembro de par de unión para el complejo inmune.

30 Además de miembros de par de unión de antígeno y de anticuerpo, otros pares de unión incluyen, como ejemplos sin limitación, biotina y avidina, carbohidratos y lectinas, secuencias de nucleótidos complementarias, secuencias de péptidos complementarias, moléculas efectoras y receptoras, co-factores enzimáticos y enzimas, inhibidores enzimáticos y enzimas, una secuencia de péptidos y un anticuerpo específico para la secuencia o la proteína entera, ácidos y bases poliméricos, aglutinantes de colorantes y de proteína, aglutinantes de péptidos y proteínas específicos (por ejemplo, ribonucleasa, S-péptido y S-proteína de ribonucleasa), y similares. Además, pares de unión específica pueden incluir miembros que son análogos del miembro de unión específica original.

35 "Marcador" cuando es utilizado en el contexto de un reactivo de unión marcado, se refiere a cualquier sustancia que es capaz de producir una señal que es detectable por medios visuales o instrumentales. Diversos marcadores incluyen marcadores que producen señales a través de medios químicos o físicos, tales que son ópticamente detectables. Tales marcadores incluyen enzimas y sustratos, cromógenos, catalizadores, compuestos fluorescentes, compuestos quimio-luminiscentes, especies electro activas, moléculas de colorante, marcadores radioactivos y marcadores de partículas. El propio analito puede ser inherentemente capaz de producir una señal detectable. El marcador puede estar unido covalentemente al reactivo de unión. En particular el marcador puede ser seleccionado a partir de uno que es ópticamente detectable.

40 El marcador puede comprender una partícula tal como oro, plata, partículas no metálicas coloidales tales como selenio o telurio, partículas teñidas o coloreadas tales como una partícula de polímero que incorpora un colorante, o un sol de colorante. El colorante puede ser de cualquier color adecuado, por ejemplo azul. El colorante puede ser fluorescente.

Pueden prepararse soles de colorante a partir de materias colorantes hidrófobas comercialmente disponibles, tales como Foron Blue SRP (Sandoz) y Resolin Blue BBLs (Bayer). Marcadores de polímero adecuados pueden ser elegidos a partir de una gama de polímeros sintéticos, tales como poliestireno, poliviniltolueno, ácido acrílico-poliestireno y poliacroleína. Los monómeros utilizados son normalmente insolubles en agua, y son emulsionados en un surfactante acuoso de modo que se forman micelas de monómero, que son a continuación inducidas a polimerizar por la adición de un iniciador a la emulsión. Se producen partículas de polímero sustancialmente esféricas. Un rango de tamaño ideal para tales partículas de polímero es de aproximadamente 0,05  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 0,5  $\mu\text{m}$ . De acuerdo con una realización ejemplar el marcador es una partícula polimérica azul.

Los reactivos de unión secados pueden estar previstos en un material portador poroso previsto aguas arriba de un material portador poroso que comprende la zona de detección. El material portador poroso aguas arriba puede ser macro-poroso. El material portador macro-poroso debería ser de unión débil a las proteínas o de carencia de unión, o debería ser fácilmente bloqueable por medio de reactivos tales como BSA o PVA, para minimizar la unión no específica y para facilitar el movimiento libre del reactivo marcado después de que el cuerpo macro-poroso haya resultado humedecido con la muestra de líquido. El material de portador macro-poroso puede ser tratado previamente con un agente tensioactivo o un disolvente, si es necesario, para hacerle más hidrófilo y para promover una rápida absorción de la muestra de líquido. Materiales adecuados para un portador macro-poroso incluyen materiales plásticos tales como polietileno y polipropileno, u otros materiales tales como papel o fibra de vidrio. En el caso en que el reactivo de unión marcado es marcado con una partícula detectable, el cuerpo macro-poroso puede tener un tamaño de poro al menos diez veces mayor que el tamaño de partícula máximo del marcador de partícula. Tamaños de poro mayores proporcionan una mejor liberación del reactivo marcado. Como una alternativa a un portador macro-poroso, el reactivo de unión marcado puede estar previsto en un sustrato no poroso previsto aguas arriba de la zona de detección, formando parte dicho sustrato no poroso de la trayectoria de flujo.

El portador poroso puede comprender un portador macro-poroso de fibra de vidrio aguas arriba de y solapándose en su extremo distal a un portador poroso de nitrocelulosa.

La muestra de líquido puede derivarse de cualquier fuente, tal como una fuente industrial, medioambiental, agrícola, o biológica. La muestra puede derivarse o consistir de una fuente fisiológica que incluye sangre, suero, plasma, fluido intersticial, saliva, esputo, líquido de lente ocular, sudor, orina, leche, moco, líquido sinovial, líquido peritoneal, exudados transdérmicos, exudados faríngeos, lavado broncoalveolar, aspiraciones traqueales, líquido cerebrospinal, semen, moco cervical, secreciones vaginales o uretrales y líquido amniótico. En particular la fuente puede ser humana y en particular la muestra puede ser orina.

“Luz” como se ha utilizado aquí pretende abarcar cualquier radiación electromagnética adecuada, independientemente de la longitud de onda. A pesar de esto, el dispositivo está principalmente destinado a utilizar luz en la parte visible del espectro, y “fuente de luz” y “fotodetector” deberían ser interpretados por consiguiente como que abarcan respectivamente cualquier fuente de, y medios para detectar, radiación electromagnética, pero especialmente con relación a la radiación de longitudes de onda visibles (es decir, en el intervalo de aproximadamente 390 a 800 nm).

El fotodetector o fotodetectores detectarán luz procedente de una o más zonas del dispositivo de análisis. La luz puede originarse actualmente desde esas zonas, por ejemplo, si el marcador es fluorescente o similar. Más normalmente sin embargo, el fotodetector o fotodetectores detectarán luz que parece emanar de esas zonas, es decir, luz que se origina desde la fuente de luz y es reflejada y/o transmitida por la zona sobre el fotodetector.

Los analitos incluyen, pero no están limitados a, toxinas, compuestos orgánicos, proteínas, péptidos, microorganismos, bacterias, virus, aminoácidos, ácidos nucleicos, carbohidratos, hormonas, esteroides, vitaminas, drogas o medicamentos (incluyendo aquellas administradas con fines terapéuticos así como aquellas administradas con fines ilícitos), contaminantes, pesticidas, y metabolitos de o anticuerpos para cualquiera de las sustancias anteriores. El término analito también incluye cualesquiera sustancias antigénicas, haptenos, anticuerpos, macro-moléculas, y combinaciones de los mismos.

El dispositivo de análisis puede determinar uno o más analitos.

El dispositivo de análisis puede ser capaz de determinar la cantidad o presencia de un analito a lo largo de un rango de analito amplio, en que el primer análisis es capaz de determinar el nivel de analito en un rango de concentración inferior y el segundo análisis es capaz de determinar el nivel de analito en una muestra de líquido en una rango de concentración superior.

Hay varias formas en las que un análisis puede ser preparado con el fin de medir analito en un rango de analito superior.

Por ejemplo, el dispositivo de análisis puede comprender un análisis depurador que comprende un reactivo de unión marcado para el analito y un reactivo de unión depurador para el analito, previsto aguas arriba de la zona de detección. El reactivo de unión depurador sirve para eliminar el analito sobrante y reducir la sensibilidad del análisis. Esto tiene el efecto de aumentar el rango dinámico del análisis permitiendo la medición a niveles de analito superiores. El reactivo de unión depurador puede estar inmovilizado, puede moverse o ambas cosas. El reactivo de unión depurador puede estar

previsto bien en la misma región del portador poroso como el reactivo de unión marcado que se puede mover, aguas arriba de ella o aguas abajo de ella. El reactivo de unión depurador puede unirse a la misma región de unión del analito como el reactivo de unión marcado que se puede mover o a una región diferente del analito que el reactivo de unión marcado. El reactivo depurador puede tener una afinidad diferente para el analito que el reactivo de unión marcado que se puede mover del segundo análisis. En una realización ejemplar, el reactivo de unión depurador tiene una afinidad superior para el analito que el reactivo de unión que se puede mover del segundo análisis. La cantidad de reactivo de unión depurador puede ser variada para cambiar la sensibilidad del análisis a la concentración de analito. Aumentar la cantidad de reactivo de unión depurador presente reduce la sensibilidad del análisis debido al hecho de que el reactivo de unión depurador es capaz de unir más analito, reduciendo efectivamente la proporción de reactivo de unión marcado que es capaz de unir a la zona de detección.

Con el fin de aumentar el rango dinámico del análisis, el dispositivo de análisis puede comprender por ejemplo múltiples zonas de detección, en que cada zona de detección es capaz de unir analito en diferentes niveles de concentración de analito. Por ejemplo las zonas respectivas pueden comprender un reactivo de unión para el analito que tiene afinidades diferentes para el analito.

Otras formas de aumentar el rango dinámico del análisis son proporcionar un dispositivo de análisis que comprende un análisis de unión en sándwich y un análisis de competencia o inhibición. Por ejemplo, el análisis en sándwich puede ser el análisis de alta sensibilidad, en particular es capaz de medir un analito en un rango de concentración inferior y el análisis de inhibición o competencia puede ser un análisis de baja sensibilidad, en particular es capaz de medir un analito en un rango de concentración superior. Otra forma es alterar la afinidad o cantidad del reactivo de unión marcado o del reactivo inmovilizado en la zona de detección. Un reactivo de unión de alta afinidad tendrá una sensibilidad de analito superior que un reactivo de unión de afinidad inferior. De manera similar una baja concentración de reactivo de unión tendrá una sensibilidad de analito inferior que una alta concentración de reactivo de unión. La sensibilidad del análisis puede ser cambiada alterando la relación de reactivo de unión al marcador del reactivo de unión marcado. Si una partícula es utilizada como marcador, entonces la cantidad del reactivo de unión aplicado al marcador puede ser alterada para alterar la sensibilidad del análisis. Otra manera de manipular la sensibilidad de un análisis es variar la cantidad del marcador utilizada en el análisis. Por ejemplo la sensibilidad de un análisis puede ser disminuida reduciendo la relación del reactivo de unión a especies marcadas para el reactivo de unión marcado.

Otro medio para manipular la sensibilidad de un análisis es alterar la densidad óptica de un marcador. La sensibilidad del análisis puede ser disminuida mediante el uso de un marcador con una densidad óptica baja. Esto puede ser logrado por ejemplo mediante la provisión de un marcador de partícula de polímero que tiene una concentración baja de colorante o mediante la utilización de un marcador coloreado que es menos sensible a un detector óptico.

Aún otra forma para medir los niveles altos de analito es emplear un reactivo de unión marcado que no esté en forma de partículas. Los niveles altos de analito cuando son medidos por medio de un análisis de unión en sándwich requieren niveles altos de analito dentro o en el portador poroso puede dar lugar a un impedimento estérico que da como resultado una sensibilidad de análisis pobre. A la inversa, en niveles de analito inferiores, la utilización de un reactivo de unión marcado que no esté en forma de partículas puede dar lugar a una señal baja debido a la baja densidad óptica. Sin embargo, en niveles de analito altos, marcadores que no estén en forma de partículas pueden estar presentes en niveles suficientemente altos para ser detectadas fácilmente. Un ejemplo de un marcador que no está en forma de partículas ópticamente detectable puede ser un colorante. El colorante puede ser fluorescente.

La sensibilidad de análisis puede estar influenciada por el caudal del portador poroso. Una forma de reducir la sensibilidad del análisis es emplear un portador poroso (tal como nitrocelulosa) que tiene un caudal superior.

La sensibilidad de un análisis puede ser además manipulada modificando la tasa a la que el reactivo de unión marcado es liberado desde su origen. Otra forma de reducir la sensibilidad de analito es proporcionar una liberación rápida del reactivo de unión marcado del portador poroso durante el contacto con la muestra de líquido. La liberación del reactivo de unión marcado puede ser modificada por la provisión de azúcares, proteínas u otras sustancias poliméricas tales como metilcelulosa dentro del dispositivo.

De acuerdo con una realización particular, el dispositivo de análisis comprende un análisis depurador que comprende un segundo reactivo de unión (depurador) que se puede mover para el analito y un reactivo de unión que se puede mover para el analito previsto aguas arriba de la zona de detección.

De acuerdo con una realización particular el primer análisis es capaz de medir analito en un rango de concentración de analito inferior y el segundo análisis es capaz de medir analito en un rango de concentración de analito superior. El primer análisis puede comprender una zona de referencia compartida y el segundo análisis puede comprender una zona de control compartida.

El primer análisis puede comprender un reactivo de unión marcado previsto aguas arriba de una zona de detección y el segundo análisis puede comprender un reactivo de unión marcado y un reactivo de unión depurador que se puede mover previsto aguas arriba de una zona de detección. El reactivo de unión depurador puede estar previsto en la misma



posición o en la región del reactivo de unión marcado aguas arriba de la zona de detección.

En particular el analito que ha de ser determinado puede ser hCG y en este caso la muestra de líquido puede ser orina.

5 El dispositivo de análisis puede determinar un solo analito tal como hCG, en que el primer análisis es capaz de determinar el nivel de hCG en una muestra de líquido en un primer rango de concentración y el segundo análisis es capaz de determinar el nivel de hCG en una muestra de líquido en un segundo rango de concentración.

10 Con el fin de medir una concentración de analito a lo largo de un cierto rango es importante asegurar que hay suficiente reactivo de unión marcado presente de tal manera que la señal de análisis no resulta saturada. La medición de grandes cantidades de analito a menudo requiere un aumento correspondiente en la cantidad de reactivo de unión marcado para evitar el denominado "efecto gancho" o saturación de la señal de análisis con concentración de analito creciente. La variación de la señal de control se ha mostrado que se produce particularmente en el caso en el que hay una cantidad aumentada de reactivo de unión presente.

15 Cuando el primer y segundo análisis está previsto que tienen diferentes cantidades de reactivo de unión marcado, se ha mostrado que es ventajoso prever la zona de referencia como parte del análisis que tiene un nivel inferior de reactivo de unión marcado.

15 De acuerdo con una realización, el dispositivo de análisis es capaz de medir analito en un rango de analito superior. Hay varias formas de proporcionar tal dispositivo.

20 Por ejemplo, el dispositivo de análisis puede comprender un reactivo de unión marcado para el analito y un segundo reactivo de unión para el analito, previstos aguas arriba de la zona de detección. El segundo reactivo de unión sirve para eliminar analito sobrante y reducir la sensibilidad del análisis. Esto tiene el efecto de aumentar el rango dinámico del análisis permitiendo la medición en niveles de analito superiores. El segundo reactivo de unión puede ser inmovilizado, puede moverse o ambos. El segundo reactivo de unión puede estar previsto bien en la misma región del portador poroso que el reactivo de unión marcado, aguas arriba de él o aguas abajo de él. El segundo reactivo de unión puede unirse a la misma región de unión del analito que el reactivo de unión marcado que se puede mover o a una región diferente del analito que el reactivo de unión marcado. El segundo reactivo puede tener una afinidad diferente para el analito que el reactivo de unión marcado que se puede mover del segundo análisis. En una realización ejemplar, el segundo reactivo de unión tiene una afinidad superior para el analito que el reactivo de unión que se puede mover del segundo análisis. La cantidad de segundo reactivo de unión puede ser variada para cambiar la sensibilidad del análisis a la concentración de analito. Aumentar la cantidad de segundo reactivo de unión presente reduce la sensibilidad del análisis debido al hecho de que el segundo reactivo de unión es capaz de unir más analito, bajando efectivamente la proporción de reactivo de unión marcado que es capaz de unirse a la zona de detección.

30 Con el fin de aumentar el rango dinámico del análisis, el dispositivo de análisis puede comprender por ejemplo múltiples zonas de detección, en que cada zona de detección es capaz de unir analito en diferentes niveles de concentración de analito. Por ejemplo las zonas respectivas pueden comprender reactivo de unión para el analito que tiene unas afinidades diferentes para el analito.

35 Otras formas de aumentar el rango dinámico del análisis son proporcionar un dispositivo de análisis que comprende un análisis de unión en sándwich y un análisis de competencia o inhibición. Por ejemplo, el análisis en sándwich puede ser el análisis de sensibilidad elevada, en particular es capaz de medir analito en un rango de concentración inferior y el análisis de inhibición o competencia puede ser un análisis de sensibilidad baja, en particular es capaz de medir analito en un rango de concentración superior. Otra forma es alterar la afinidad o cantidad de reactivo de unión marcado o del reactivo inmovilizado en la zona de detección. Un reactivo de unión de alta afinidad tendrá una sensibilidad de analito superior que un reactivo de unión de afinidad inferior. De manera similar una baja concentración de reactivo de unión tendrá una sensibilidad de analito inferior que una alta concentración de reactivo de unión. La sensibilidad de análisis puede ser cambiada alterando la relación de reactivo de unión al marcador del reactivo de unión marcado. Si una partícula es utilizada como marcador, entonces la cantidad de reactivo de unión aplicada al marcador puede ser alterada para alterar la sensibilidad del análisis. Otra forma de manipular la sensibilidad de un análisis es variar la cantidad del marcador utilizada en el análisis. Por ejemplo la sensibilidad de un análisis puede ser disminuida reduciendo la relación de reactivo de unión a especies marcadas para el reactivo de unión marcado.

50 Otro medio para manipular la sensibilidad de un análisis es alterar la densidad óptica de un marcador. La sensibilidad de análisis puede ser reducida por la utilización de un marcador con una baja densidad óptica. Esto puede ser logrado por ejemplo por la previsión de un marcador de partícula de polímero que tiene una baja concentración de colorante o por la utilización de un marcador coloreado que es menos sensible a un detector óptico.

55 Aún otra forma para medir niveles altos de analito es emplear un reactivo de unión marcado que no está en forma de partículas. Niveles altos de analito cuando son medidos por medio de un análisis de unión en sándwich requieren niveles altos de reactivo de unión. En el caso en que el marcador es un marcador en partículas, la previsión de niveles altos de analito dentro o sobre el portador poroso puede dar lugar a un impedimento estérico que da como resultado una sensibilidad de análisis pobre. A la inversa, en niveles de analito inferiores, la utilización de un reactivo de unión marcado

que no está en forma de partículas puede dar lugar a una señal baja debido a la densidad óptica baja. Sin embargo, en niveles de analito altos, marcadores que no están en forma de partículas pueden estar presentes en niveles suficientemente altos para ser detectados fácilmente. Un ejemplo de un marcador que no está en forma de partículas ópticamente detectable puede ser un colorante. El colorante puede ser fluorescente.

- 5 La sensibilidad de análisis puede estar influenciada por el caudal del portador poroso. Una forma de reducir la sensibilidad del análisis es emplear un portador poroso (tal como nitrocelulosa) que tiene un caudal superior.

La sensibilidad de un análisis se puede manipular además modificando la tasa a la que el reactivo de unión marcado es liberado desde su origen. Otra forma de reducir la sensibilidad de analito es proporcionar una liberación rápida del reactivo de unión marcado del portador poroso durante el contacto con la muestra de líquido. La liberación del reactivo de unión marcado puede ser modificada por la provisión de azúcares, proteínas u otras sustancias poliméricas tales como metilcelulosa dentro del dispositivo.

10

De acuerdo con una realización particular, el dispositivo de análisis comprende un segundo reactivo de unión que se puede mover para el analito y un reactivo de unión que se puede mover para el analito previsto aguas arriba de la zona de detección. El segundo reactivo de unión puede estar previsto en la misma posición o en una posición similar aguas arriba de la zona de detección que el reactivo de unión marcado.

15

De acuerdo con una realización particular, el dispositivo de análisis comprende dos análisis comprendiendo cada uno una trayectoria de flujo, en que el primer dispositivo de análisis es capaz de medir analito en un rango de concentración de analito inferior y el segundo análisis es capaz de medir analito en un rango de concentración de analito superior. El primer análisis puede comprender una zona de referencia compartida y el segundo análisis puede comprender una zona de control compartida.

20

El dispositivo de análisis puede ser utilizado para medir la cantidad o presencia de hCG a lo largo de un rango de concentración amplio. El rango puede variar de entre aproximadamente 10mIU a aproximadamente 250.000mIU.

El segundo análisis puede comprender un reactivo de unión marcado para el analito y un segundo reactivo de unión marcado para el analito. El primer análisis puede comprender un reactivo de unión marcado para analito previsto aguas arriba de la zona de detección.

25

El dispositivo de análisis puede comprender uno o más valores de umbral de medición adicionales para indicar el nivel de analito en un cierto rango de analito. En una realización, el dispositivo de análisis comprende un primer y segundo umbrales de medición, en que una señal de medición de analito menor que el primer umbral de medición es indicativa de la ausencia de analito o la ausencia de analito por encima de un cierto nivel y en que una señal de medición de analito mayor que el segundo umbral es indicativa del nivel de analito en un segundo rango de concentración y una señal de medición menor que el segundo umbral es indicativa del nivel de analito en un primer rango de concentración. De acuerdo con una realización particular, el dispositivo de análisis comprende adicionalmente un tercer umbral de medición, en que una señal de medición de analito mayor que el tercer umbral es indicativa del nivel de analito en un tercer rango de concentración.

30

En particular el dispositivo de análisis puede ser capaz de medir la presencia y cantidad del analito hCG en una muestra de líquido, en particular orina, de un sujeto mamífero hembra. El dispositivo de análisis puede comprender un primer umbral de medición, en que los niveles de señal de analito hCG por debajo del umbral son indicativos de no estar embarazada y en que los niveles de señal de analito hCG mayores o iguales que el primer umbral de medición son indicativos de estar embarazada, en que el dispositivo comprende al menos otro umbral de medición. Además el dispositivo de análisis puede proporcionar una indicación del tiempo de embarazo. El dispositivo de análisis puede proporcionar una indicación basada en el tiempo al usuario, tal como el tiempo de embarazo en unidades de días o semanas.

35

40

Un análisis completo típico para el tiempo de desarrollo de un ensayo de análisis para la determinación de hCG en orina es de 3 minutos.

Es un objeto deseable del invento reducir el número de componentes ópticos, esto puede ser logrado convenientemente, cuando la zona de referencia está prevista como parte de un análisis y la zona de control está prevista como parte del otro análisis. De acuerdo con una realización, la zona de referencia está prevista como parte de un primer análisis que tiene un nivel inferior de reactivo de unión marcado y la zona de control está prevista como parte de un segundo análisis que tiene un nivel superior de reactivo de unión.

45

De acuerdo con una realización, el dispositivo de análisis comprende cuatro fuentes de luz, en que las fuentes de luz están previstas para iluminar las zonas de detección del primer y segundo análisis y las zonas de control y de referencia compartidas, estando iluminada cada zona por una fuente de luz respectiva. Uno o más fotodetectores pueden estar posicionados para detectar luz reflejada y/o transmitida desde las zonas respectivas. De acuerdo con una realización, un solo fotodetector puede ser empleado para detectar luz procedente de todas las zonas. Esto puede ser logrado, por ejemplo, iluminando las zonas respectivas secuencialmente de tal manera que el dispositivo es capaz de reconocer desde que zona está emanando la luz detectada en el fotodetector. El proceso de iluminación secuencial puede ser

50

55

repetido con una frecuencia fija o variable durante la duración del análisis de tal manera que los niveles de la señal a lo largo del tiempo pueden ser vigilados en cada zona. Además el cambio de niveles de luz detectada desde una o más zonas puede ser utilizado para determinar si una muestra de fluido ha sido aplicada al dispositivo y cuando lo ha sido y para determinar el caudal de muestra de líquido a lo largo del dispositivo. La determinación del caudal puede ser utilizada como otro ensayo de control de calidad, por ejemplo el análisis puede ser rechazado si el caudal es o bien mayor o bien menor que los niveles establecidos. Un método y medios de detección de caudal adecuado están descritos por el documento EP1484601.

El reactivo de unión marcado se acumula típicamente en la zona de detección a lo largo de un período de tiempo para un análisis inmunológico en sándwich y así la tasa de aumento de señal a lo largo del tiempo puede ser vigilada. El dispositivo puede determinar el resultado después de que la señal haya alcanzado el equilibrio o más típicamente antes de que la reacción haya alcanzado el equilibrio. El dispositivo puede proporcionar un resultado cuantitativo tal como un valor individual, un resultado semi-cuantitativo o rango tal como 1-10, 11-20 y así sucesivamente, o un resultado cualitativo tal como SI/NO. El dispositivo puede determinar el resultado con respecto a uno o más umbrales de señal. El dispositivo puede tener un tiempo de medición fijado o proporcionar un resultado anticipado antes de que haya transcurrido el tiempo de medición fijado. Un resultado anticipado puede por ejemplo ser proporcionado en el caso en el que el dispositivo determina que el nivel de señal nunca sobrepasará un umbral particular o sobrepasa un umbral particular en una etapa temprana. En estos casos particulares el dispositivo puede solicitar una medición anticipada NO o SI, indicando la ausencia o presencia de analito con respecto a un nivel de base particular (que puede ser cero). Un dispositivo de análisis que emplea un método de determinación de resultado anticipado está descrito por el documento EP1484601.

El dispositivo de análisis puede ser utilizado para determinar si un sujeto está o no embarazado (en particular si la muestra de líquido contiene hCG por encima de un cierto nivel) y también puede emplear umbrales adicionales que indican al usuario el tiempo de embarazo. El tiempo de embarazo puede ser presentado en términos de una medición basada en el tiempo o basada en concentración.

El dispositivo de análisis comprenderá típicamente un alojamiento. El alojamiento puede ser impermeable a los fluidos y estar construido a partir de un material plástico adecuado, tal como ABS. El dispositivo de análisis puede comprender además un miembro de recepción de muestra para recibir la muestra de fluido. El miembro de recepción de muestra puede extenderse desde el alojamiento.

El alojamiento puede estar construido de un material impermeable a los fluidos. El alojamiento también excluirá de manera deseable la luz ambiente. El alojamiento o envoltente se considerará que excluye sustancialmente la luz ambiente si menos del 10%, preferiblemente menos del 5%, y más preferiblemente menos del 1%, de la luz visible que incide sobre el exterior del dispositivo penetra en el interior del dispositivo. Un material plástico sintético impermeable a la luz tal como policarbonato, ABS, poliestireno, poliestirol, polietileno de alta densidad, o polipropileno que contiene un pigmento bloqueador de la luz apropiado es una elección adecuada para utilizar en la fabricación del alojamiento. Una abertura puede estar prevista en el exterior del alojamiento que comunica con el análisis previsto dentro del espacio interior dentro del alojamiento. Alternativamente la abertura puede servir para permitir a un receptor de muestra porosa extenderse desde el alojamiento a una posición externa del alojamiento.

También prevista dentro del alojamiento habrá típicamente una fuente de alimentación. El dispositivo comprenderá típicamente un medio de presentación para presentar el resultado del análisis así como un medio de memoria para almacenar datos. Convenientemente el medio de presentación comprende una pantalla de LCD.

Los medios de presentación pueden presentar además información adicional tal como un mensaje de error, detalles personales, hora, fecha y un cronómetro para informar al usuario durante cuánto tiempo ha sido medido el análisis. La información presentada por el análisis puede estar indicada en palabras, números o símbolos, en cualquier tipo de letra, alfabeto o idioma, por ejemplo, "positivo", "negativo", "+", "-", "embarazada", "no embarazada", "vea a su médico", "repetir el ensayo o prueba".

El dispositivo de análisis puede comprender además un receptor de muestra, que comprende un miembro poroso receptor de muestra, en conexión fluida con y aguas arriba de una o ambas trayectorias de flujo de análisis. El dispositivo de análisis puede comprender más de una trayectoria de flujo de análisis comprendiendo cada una de ellas una zona de detección, en cuyo caso puede estar previsto un solo miembro poroso receptor de muestra que es común a las múltiples trayectorias de flujo de análisis. Así una muestra de fluido aplicada al miembro poroso del dispositivo es capaz de desplazarse a lo largo de las trayectorias de flujo de los análisis respectivos a las zonas de detección respectivas. El miembro poroso puede estar previsto dentro de un alojamiento o puede extenderse al menos parcialmente fuera de dicho alojamiento y puede servir, por ejemplo, para recoger un flujo de orina. El miembro poroso puede actuar como un depósito de fluido. El miembro poroso puede estar hecho de cualquier material esponjoso, poroso o fibroso capaz de absorber líquido rápidamente. La porosidad del material puede ser unidireccional (es decir, con poros o fibras que discurren total o predominantemente paralelos a un eje del miembro) o multidireccional (omnidireccional, de modo que el miembro tiene una estructura amorfa similar a una esponja). Pueden utilizarse material plástico poroso, tal como polipropileno, polietileno (preferiblemente de peso molecular muy alto), fluoruro de polivinilideno, etileno-acetato de vinilo, acrilonitrilo y politetrafluoroetileno. Otros materiales adecuados incluyen fibra de vidrio. La previsión de un miembro

poroso receptor de muestra común permite que una sola muestra sea proporcionada simultáneamente a las trayectorias de flujo del primer y segundo análisis y además aumenta la eficacia de proporcionar una zona de referencia compartida y/o de control compartido.

- 5 El invento proporciona un método de acuerdo con la reivindicación 25 de realización de un análisis para determinar la presencia y/o cantidad de uno o más analitos, comprendiendo el método la operación de poner en contacto una muestra de líquido con un dispositivo de análisis.

#### Visión de conjunto de las figuras

La fig. 1 es una vista de un dispositivo de análisis de acuerdo;

La fig. 2 es una vista esquemática de las trayectorias de flujo de análisis de acuerdo con una realización ejemplar;

- 10 La fig. 3 es una vista de la disposición de las fuentes de luz y del fotodetector de la realización mostrada en la fig. 2;

La fig. 4 es una vista en sección transversal esquemática de parte de una realización del dispositivo de análisis que ilustra las posiciones relativas de alguno de los componentes de análisis;

Las figs. 5a y 5b son vistas de la parte inferior de una disposición de deflector que muestran también alguno de los componentes ópticos de la realización mostrada en la fig. 3; y

- 15 La fig. 6 es una vista superior de la parte de la realización del dispositivo de análisis representada en las figuras precedentes, y que ilustra una tira de ensayo de flujo lateral in situ en el dispositivo de análisis.

#### Descripción detallada

- 20 Una vista superior externa de un dispositivo de análisis está mostrada en la fig. 1. El dispositivo (10) es alargado con una longitud de aproximadamente 14 cm y una anchura de aproximadamente 25 mm. La envoltura (11) puede estar formada de una envoltura impermeable a los líquidos adecuada tal como de policarbonato, ABS, poliestireno, polietileno de alta densidad, o polipropileno. El receptor (12) de muestra poroso externo puede estar formado de cualquier material esponjoso, poroso o fibroso capaz de absorber líquido rápidamente. También hay mostrada una pantalla de presentación (15) de LCD para presentar los resultados del análisis. También previstas dentro del dispositivo de análisis y no mostradas, están las trayectorias de flujo de análisis, fuentes de luz, fotodetector, una fuente de alimentación y componentes electrónicos asociados.

- 30 La fig. 2 muestra el diseño del fotodetector y de los portadores porosos de análisis individuales de un dispositivo de análisis de acuerdo con una realización ejemplar. El dispositivo de análisis (20) tiene una región de aplicación de muestra común (21) que conecta de manera fluida el primer y segundo análisis (22) y (23). Un solo fotodetector (4) está previsto entre los dos análisis para detectar luz procedente de las zonas respectivas. Las zonas (24) y (25) corresponden respectivamente a una zona de detección y control en el primer análisis (22). Las zonas (26) y (27) corresponden respectivamente a una zona de detección y referencia en el segundo análisis (23). No se han mostrado los cuatro LED correspondientes cada uno de los cuales ilumina una zona respectiva a través de una ventana posicionada de manera apropiada.

- 35 La fig. 3 muestra una vista de la disposición de acuerdo con una realización ejemplar que comprende un solo fotodetector (32) y cuatro LED (31). El área activa del fotodetector es 1,5 mm x 1,5 mm.

- 40 La fig. 4 muestra una vista esquemática en sección transversal del dispositivo de análisis (40) que muestra las posiciones relativas de alguno de los componentes. La luz procedente del LED (41) ilumina una zona de tira (42) y la luz reflejada desde la zona es detectada en el fotodetector (44). De manera similar, la luz procedente del LED (45) ilumina una zona de tira (46) y la luz reflejada es detectada en el fotodetector. Hay previstos divisores (47) que impiden que la luz procedente del LED incida directamente en el fotodetector. También hay previsto un miembro inclinado (48) que sirve para impedir la iluminación de la tira (46) por el LED (41) y de manera correspondiente la iluminación de tira (42) por el LED (45) mientras permite que la luz reflejada desde las tiras de ensayo respectivas sea detectada por el fotodetector. El miembro inclinado también sirve para guiar la luz reflejada desde las tiras de ensayo sobre el fotodetector. Los LED están montados en una superficie (49) hecha de placa de circuito impreso.

- 45 La fig. 5a ilustra una vista del lado inferior de la disposición de deflector de la realización ejemplificada. La luz procedente de los LED, de los que se ha mostrado uno (indicado por el número de referencia 51), ilumina una zona de una tira de análisis (no mostrada) a través de una abertura. Cada LED está asociado con una abertura respectiva. En la figura, una abertura ejemplar está indicada por el número de referencia 55. La luz es reflejada desde la tira sobre el fotodetector (52). También se ha mostrado el miembro inclinado (53) y el divisor (56). Los LED adyacentes son apantallados entre sí por los deflectores (54).

La fig. 5b muestra una vista del lado inferior de la disposición de deflector de la realización ejemplificada desde una perspectiva diferente. El miembro inclinado (53) es simétrico alrededor del eje (57) y sirve para guiar la luz reflejada

desde los cuatro LED (no mostrados) sobre el fotodetector (no mostrado).

La fig. 6 muestra una vista superior del dispositivo de análisis que mira hacia abajo sobre una tira de ensayo (61) ubicada sobre las aberturas (62) y mantenida en posición por pasadores de posicionamiento (63). Los LED y el fotodetector pueden ser vistos parcialmente a través de las aberturas.

5 Ejemplo 1

El valor de la señal determinada desde las zonas respectivas para un dispositivo de análisis que comprende una zona de ensayo de baja densidad (para medir la concentración alta de analito) y una zona de ensayo de sensibilidad alta (para medir la concentración baja de analito) está determinada por los medios de cálculo de señal como sigue:

La utilización de las tiras y ventanas está definida en la tabla siguiente (véase la fig. 2)

Tira	Ventana 1	Ventana 2
A	Línea de ensayo de Baja Sensibilidad (LS)	Línea de Control (Ctrl)
B	Línea de análisis de Alta Sensibilidad (HS)	Ventana de referencia (Ref)

10 Se realizan mediciones de la luz reflejada desde cada ventana aproximadamente dos veces por segundo y un filtro digital pasa bajos es utilizado para rechaza el ruido y uniformizar los datos. Valores filtrados son utilizados para detectar flujo y determinar el resultado y están expresados en términos de atenuación relativa de porcentaje normalizado (%A). Esto tiene en cuenta y minimiza cualesquiera variaciones en los componentes ópticos tanto dentro del dispositivo como entre dispositivos.

15 El valor medido es inversamente proporcional a la cantidad de luz reflejada.

Para cada ventana, la relación de ventana en las ventanas de referencia, control y ensayo es igual al valor medido cuando el portador poroso está seco, t=0 (antes de la adición de muestra), dividido por el valor medido en el tiempo t después de la adición de muestra:

CÁLCULO DE RELACIONES DE VENTANA FILTRADA

20 Para cada punto de tiempo t las relaciones de ventana para cada ventana son evaluadas como sigue:

$$\text{Relación de Ref}_t = \frac{\text{valor de ventana de referencia filtrada}_{time=0}}{\text{valor de ventana de referencia filtrada}_{time=t}}$$

$$\text{Relación HS}_t = \frac{\text{valor de ventana de ensayo HS filtrado}_{time=0}}{\text{valor de ventana de ensayo HS filtrado}_{time=t}}$$

$$\text{Relación LS}_t = \frac{\text{valor de ventana de ensayo LS filtrado}_{time=0}}{\text{valor de ventana de ensayo LS filtrado}_{time=t}}$$

$$\text{Relación Ctrl}_t = \frac{\text{valor de ventana de Ctrl filtrado}_{time=0}}{\text{valor de ventana de Ctrl filtrado}_{time=t}}$$

25 CÁLCULO DE VALORES %A FILTRADOS

La atenuación relativa de porcentaje normalizado (%A) es proporcionada por la diferencia de la relación de ventana de referencia (ref.) y la relación de ventana que es considerada (ventanas de control o de ensayo) dividida por la relación de ventana de referencia y multiplicada por 100%.

30 Para cada punto de tiempo t, son calculados valores de %A para la línea de análisis HS, la línea de análisis LS y la línea de control, en que:

$$\text{HS}_t(\%A) = \frac{\text{Relación}_t \text{ de Ref} - \text{Relación}_t \text{ de ensayo HS}}{\text{Relación}_t \text{ de Ref}} \times 100\%$$

$$\text{LS}_t(\%A) = \frac{\text{Relación}_t \text{ de Ref} - \text{Relación}_t \text{ de ensayo LS}}{\text{Relación}_t \text{ de Ref}} \times 100\%$$

$$\text{Ctrl}_i (\%A) = \frac{\text{Relación}_i \text{ de Ref} - \text{Relación}_i \text{ de Ctrl}}{\text{Relación}_i \text{ de Ref}} \times 100\%$$

#### Construcción de dispositivos de análisis

- 5 Se construyó un dispositivo de análisis comprendiendo una primera tira de ensayo de análisis que comprende un reactivo de unión marcado previsto aguas arriba de una zona de detección y una segunda tira de ensayo de análisis que comprende un reactivo de unión marcado y un segundo reactivo de unión (depurador) para el analito así como un reactivo de unión marcado para una zona de control prevista aguas arriba de una zona de detección y una zona de control.

#### Preparación de la primera tira de ensayo de análisis

- 10 Se preparó la zona de detección dispensando una línea de anticuerpo anti- $\beta$ -hCG (clon interno 3468) en una concentración de 3 mg/ml en tampón de PBSA, a una tasa de 1  $\mu$ l/cm o sobre bandas de nitrocelulosa de dimensiones 350 mm de longitud x 40 mm de anchura (Whatman) que tiene un tamaño de poro de 8 micras y un grosor de entre 90-100 micras que habían sido estratificadas a una capa de soporte de 175 micras. Se aplicó el anticuerpo anti- $\beta$ -hCG utilizando la plataforma de dispensación Biodot xyz3050 como una línea ~1,2 mm de anchura y ~300 mm de longitud en una posición de 10 mm a lo largo de la longitud de la nitrocelulosa.

- 15 Las bandas de nitrocelulosa se secaron utilizando una estufa de secado Hedinair serie #17494 ajustada a 55 °C y velocidad 5 (un solo paso).

La nitrocelulosa fue bloqueada subsiguientemente utilizando un tampón de bloqueo que comprende una mezcla de 5% de etanol (BDH Analar 104766P) más 150mM de Cloruro de Sodio (BHD Analar 10241AP) más 50mM de base de trizma de (Sigma T1503) más Tween 20 (Sigma P1379) y 1% (peso/volumen) alcohol de polivinilo (PVA, Sigma 360627).

- 20 Se aplicó el tampón de bloqueo a una tasa de 1,75  $\mu$ l/mm al extremo proximal de la banda. Una vez que la solución de bloqueo había empapado la membrana se aplicó una solución de 2% (peso/volumen) de sacarosa (Sigma S8501 en agua desionizada) utilizando el mismo aparato a una tasa de 1,6  $\mu$ l/mm y se le permitió empapar la membrana de celulosa durante ~5 minutos).

- 25 Las bandas de NC se secaron entonces utilizando una estufa de secado Hedinair serie #17494 ajustada a 75 °C y velocidad 5 (un solo paso).

#### Preparación del reactivo de unión marcado que se puede mover sobre el primer material de portador poroso

Se preparó el reactivo de unión marcado de acuerdo con el siguiente protocolo:

##### Revestimiento con partículas de látex con un anti- $\alpha$ -hCG

- 30 1. Diluir partículas de látex azul de Duke Scientific (400 nm de diámetro, DB1040CB en 10% de sólidos (peso/volumen)) a 2% de sólidos (peso/volumen) con 100 mM de tampón de tetraborato disódico pH 8,5 (BDH AnalaR 102676G) (DTB).
2. Lavar el látex diluido centrifugando un volumen de (2 mls) de látex diluido en dos tubos centrifugos Eppendorf a 17000 rpm (25.848 rcf) durante 10 minutos en una Biofuge Heraeus 17RS centrífuga. Retirar y desechar el sobrenadante y volver a suspender las bolitas en 100 mM DTB para proporcionar un 4% de sólidos (peso/volumen) en un volumen total de 1 ml.
- 35 3. Preparar una mezcla de etanol y acetato de sodio (95% Etanol BDH AnalaR 104766P con 5% peso/volumen de Acetato de Sodio Sigma S-2889).
4. Añadir 100  $\mu$ l de solución de etanol-acetato de sodio al látex lavado en la operación 2 (esto es el 10% del volumen de látex).
5. Diluir el anticuerpo de stock (clon interno 3299) para proporcionar ~1200  $\mu$ g/ml de anticuerpo en DTB.
- 40 6. Calentar un volumen de 1 ml del anticuerpo diluido de la operación 5 en un baño de agua ajustado a 41,5 °C durante ~ 2 minutos. Calentar también el látex lavado más etanol-acetato de sodio procedente de la operación 4 en el mismo baño de agua durante 2 minutos.
7. Añadir el anticuerpo diluido al látex más etanol-acetato, mezclar bien e incubar durante 1 hora en el baño de agua ajustado a 41,5 °C mientras se mezcla utilizando una agitador magnético y una pulga magnética colocada en la mezcla.
- 45 8. Preparar 40 mg/ml de Solución de Albúmina de Suero Bovino (BSA) (Intergen W22903 in agua desionizada). Bloquear el látex añadiendo un volumen igual de 40 mg/ml de BSA a la mezcla de látex/anticuerpo/etanol-acetato e incubar en el baño de agua a 41,5 °C durante 30 minutos con agitación continua.

9. Centrifugar la mezcla a 17000 rpm durante 10 minutos como en la operación 2, (dividir el volumen en lotes de 1 ml entre tubos Eppendorf). Retirar y desechar la sustancia que flota en la superficie y volver a suspender las bolitas en 100 mM de DTB. Repetir el centrifugado como en la operación 2, retirar y desechar la sustancia que flota en la superficie y volver a suspender en pellet en Tampón de Cepillado de Aire (20% (peso/volumen) Sacarosa Sigma S8501, 10% BSA (peso/volumen) en 100 mM de Sigma Base de Trizma T1503 pH a 9). Añadir Tampón de Cepillado de Aire para proporcionar un 4% de sólidos (peso/volumen) de látex.

Se conjugó el látex y se pulverizó en una mezcla de BSA y sacarosa sobre un portador poroso de fibra de vidrio (F529-09, Whatman) a una tasa de 50 g/hr y 110 mm/s y se secó utilizando una Estufa Transportadora de Hedinar con número de Serie 17494 ajustada a 65 °C y velocidad 5 (un solo paso).

10 La zona elegida como la zona de referencia estaba a una distancia de 13 mm a lo largo de nitrocelulosa, en particular aguas abajo de la zona de detección.

15 Se unió el material de fibra de vidrio que comprende el reactivo de unión marcado a la membrana de nitrocelulosa utilizando una película estratificada revestida de adhesivo transparente (Ferrisgate, 38 mm de ancho) dispuesta de tal manera que el reactivo marcado estaba más arriba y la fibra de vidrio se solapó a la superficie de nitrocelulosa por ~ 2 mm a lo largo de la longitud (350 mm) de la banda de membrana de nitrocelulosa. Se unió la fibra de vidrio al extremo de la nitrocelulosa de tal manera que estaba aguas arriba de la zona de detección.

20 Se cortó subsiguientemente la lámina estratificada en tiras de ensayo que comprenden un material portador poroso de fibra de vidrio que tiene una anchura de 6 mm y una longitud de 25 mm, habiendo sido aplicados los reactivos marcados 20 mm a lo largo de la longitud de la fibra de vidrio, prevista aguas arriba de una membrana de nitrocelulosa y solapándola por 2 mm, que tiene una anchura de 6 mm y una longitud de 40 mm.

#### Preparación de la segunda tira de ensayo de análisis

Se preparó la zona de detección como sigue:

25 Se representaron 3 mg/ml de Anticuerpo  $\beta$ -hCG de ratón MAAb anti-humano (clon 3468) en tampón de PBSA a 1  $\mu$ l/cm sobre nitrocelulosa (de tipo y dimensiones como los de acuerdo con el primer análisis) en la posición de 10 mm que utiliza una plataforma de dispensación Biotodot XYZ3050 para proporcionar una única zona de detección para el primer análisis.

Se preparó la zona de control como sigue:

30 Se representaron 2 mg/ml de Anticuerpo Goat-anti-Conejo (Lampire) en tampón de PBSA a 1  $\mu$ l/cm sobre la misma nitrocelulosa que la utilizada para el segundo análisis, en la posición de 13 mm utilizando una plataforma de dispensación Biotodot XYZ3050 para proporcionar una única zona de control para el dispositivo de análisis.

35 Se mezcló  $\alpha$ -hCG de ratón-anti-humano mAb (clon 3299) conjugado a 400 nm de látex poliestireno azul (Duke Scientific) con anticuerpo depurador de  $\beta$ -hCG de ratón mAb anti-humano (clon interno 3468) a 3 mg/ml para proporcionar un % final de látex azul del 3%, una concentración 3468 final de 0,075 mg/ml y una concentración de 0,06 mg/ml del anticuerpo libre de anti- $\beta$ -hCG. Se barrió con aire la mezcla resultante sobre fibra de vidrio Whatman (carretes F529 de 25 mm de ancho) utilizando el BIODOT XYZS (número de serie 1673) a 90 g/h pulverizado a 2,02  $\mu$ g/cm sobre fibra de vidrio F529-09 aproximadamente a la posición de 20 mm. Se dispersó la solución pulverizada para formar una banda que era de aproximadamente 7 mm de longitud.

El reactivo de unión marcado para la zona de control también se depositó sobre la misma región del portador poroso que el reactivo de unión marcado para el analito como sigue:

40 Se conjugó IgG de conejo (Dako) a 400 nm de látex de poliestireno de látex azul (Duke Scientific) en BSA/sacarosa para proporcionar un % final de látex azul de 0,7% de sólidos y se pulverizó a 65 g/h sobre fibra de vidrio.

45 Se secó la fibra de vidrio utilizando una Estufa Transportadora Hedinar con número de Serie 17494 ajustada a 65 °C y velocidad 5 (un solo paso). Se depositó un segundo paso de látex sobre la fibra de vidrio repitiendo lo anterior sin embargo a un desplazamiento de ~ 0,8 mm desde la posición original de pulverización (más aguas abajo de la fibra de vidrio). La fibra de vidrio fue secada como se ha descrito anteriormente.

50 Se unió el material de fibra de vidrio con látex pulverizado a la membrana de nitrocelulosa utilizando una película estratificada revestida con un adhesivo transparente (Ferrisgate, 38 mm de ancho) dispuesta de tal manera que el látex pulverizado estaba más arriba y la fibra de vidrio se solapó a la superficie de la nitrocelulosa por aproximadamente 2 mm a lo largo de la longitud (350 mm) de la banda de membrana de nitrocelulosa. Se previó la fibra de vidrio aguas arriba de la membrana de nitrocelulosa y se previeron los reactivos de unión hacia el extremo distal de la fibra de vidrio.

Se cortó subsiguientemente la lámina estratificada en tiras de ensayo que comprenden un material de portador poroso de fibra de vidrio que tiene una anchura de 6 mm y una longitud de 25 mm, habiendo sido aplicados los reactivos de unión

marcados 20 mm a lo largo de la longitud de la fibra de vidrio, prevista aguas arriba de una membrana de nitrocelulosa y solapándose por 2 mm que tiene una anchura de 6 mm y una longitud de 40 mm. Se previó un receptor de muestra poroso (Filtrona) de 45 mm de longitud, 12 mm de anchura y un grosor de aproximadamente 2,5 mm aguas arriba del primer material portador poroso y solapándolo por aproximadamente 3 mm.

- 5 También se depositó el reactivo de unión marcado para la zona de control sobre la misma región del portador poroso que el reactivo de unión marcado para el analito como sigue:

Se conjugó IgG (Dako) de conejo a 400 nm de látex de poliestireno de látex azul (Duke Scientific) en BSA/sacarosa para proporcionar un % final de látex azul de 0,7% de sólidos y se pulverizó a 65 g/h sobre fibra de vidrio (F529-09).

- 10 Se posicionaron la primera y segunda tiras de ensayo de análisis paralelas entre sí y se superpuso una almohadilla de aplicación de muestra de poliéster común (505521, Filtrona) en los extremos aguas arriba de ambos análisis. Se superpuso una almohadilla de sumidero absorbente de algodón común (CF7, Whatman) aguas abajo de las zonas de referencia y control.

- 15 Se preparó el dispositivo de análisis montando las tiras de análisis en una configuración paralela en un alojamiento de plástico que comprende los componentes ópticos. Se dispusieron los LED de tal manera que se posicionaron los cuatro LED en estrecha proximidad a las cuatro zonas respectivas (2 zonas de detección y las zonas de referencia y de control) en una posición desplazada y por encima del plano de los análisis. Se posición un solo fotodetector entre y por encima del plano de los dos análisis y se posicionó en el centro de las tiras de análisis (véase la fig. 2).

20



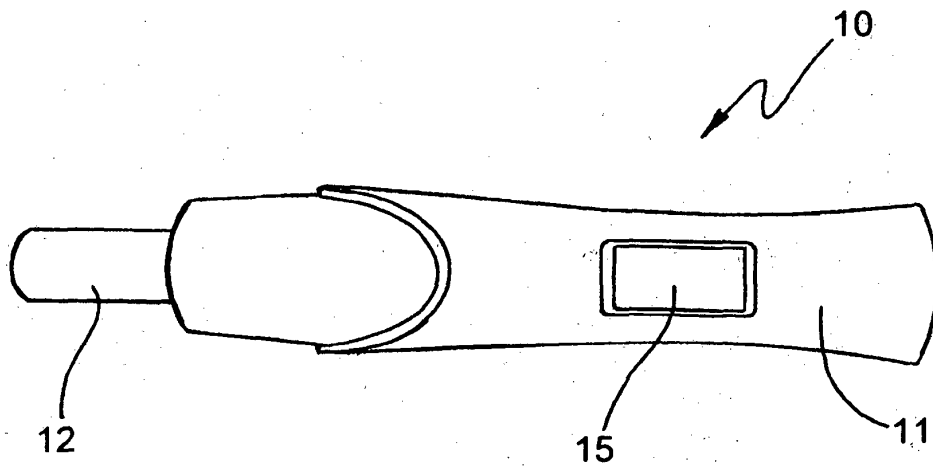
**REIVINDICACIONES**

1. Un dispositivo de análisis con un dispositivo de lectura de resultado de análisis para leer el resultado de análisis realizados en el dispositivo de análisis, siendo el dispositivo de análisis (20) para determinar la presencia y/o cantidad de uno o más analitos en una muestra de líquido, comprendiendo dicho dispositivo de análisis:
- 5 a) una primera y segunda tiras de ensayo de análisis (22, 23) cada una de las cuales comprende una trayectoria de flujo respectiva que tiene una zona de detección (24, 26) para inmovilizar un reactivo de unión marcado, en que la detección de un reactivo de unión marcado en una o ambas zonas de detección es indicativa de la presencia y/o cantidad de uno o más analitos, en que la primera y segunda tiras de ensayo de análisis están en sustratos separados o están previstas en un sustrato común pero aisladas de tal manera que el líquido no puede atravesar desde la trayectoria de flujo de una tira de ensayo de análisis a la trayectoria de flujo de la otra, y en que la primera y segunda tiras de ensayo de análisis tienen una región (21) de aplicación de muestra porosa común;
- 10 b) una sola zona de referencia compartida (27) presente en una de dichas primera y segunda tiras de ensayo de análisis; comprendiendo el dispositivo de lectura de resultado de análisis:
- c) una o más fuentes de luz (41, 45) para iluminar las zonas de detección y la zona de referencia compartida;
- 15 d) uno o más fotodetectores (4) para detectar luz procedente de las zonas de detección y de la zona de referencia compartida, cuyo fotodetector o fotodetectores generan una señal, la magnitud de cuya señal está relacionada con la cantidad de luz detectada; y
- e) medios de tratamiento de señal para tratar señales procedentes del fotodetector o fotodetectores;
- 20 en que el valor de la señal obtenida procedente de la zona de referencia compartida en una de dichas tiras de ensayo de análisis es utilizado para compensar el valor de la señal obtenida en la zona de detección de la otra de dichas tiras de ensayo de análisis.
2. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según la reivindicación 1, en el que la primera y/o segunda tiras de ensayo de análisis comprenden un reactivo de unión marcado para un analito o un análogo de analito previsto en una forma que se puede mover aguas arriba de la zona de detección en un estado seco antes de la utilización del dispositivo.
- 25 3. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según las reivindicaciones 1 ó 2, en el que la primera y/o segunda tiras de ensayo de análisis comprenden un reactivo de unión para un analito previsto en una forma inmovilizada en la zona de detección.
4. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende además una sola zona de control compartida (25), que indica si se ha llevado a cabo correctamente o no una ensayo para el análisis.
- 30 5. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según la reivindicación 4, en el que la zona de control está comprendida como parte bien de la primera o bien de la segunda tiras de ensayo de análisis.
6. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en el que la zona de control está comprendida como parte de una tira de ensayo de análisis y la zona de referencia compartida está comprendida como parte de la otra tira de ensayo de análisis.
- 35 7. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la primera y segunda tiras de ensayo de análisis son capaces de detectar la presencia de un analito en diferentes rangos de concentración.
8. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las trayectorias de flujo de la primera y segunda tiras de ensayo de análisis comprenden cada una un portador poroso (42, 46).
- 40 9. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según la reivindicación 8, en el que el portador o portadores porosos comprenden nitrocelulosa.
10. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un sumidero previsto en el extremo distal de las tiras de ensayo de análisis.
- 45 11. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que la primera y segunda tiras de ensayo de análisis comprenden cada una diferentes cantidades de reactivo de unión marcado.
12. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que la primera tira de ensayo de análisis es para la detección de un analito en un rango inferior y la segunda tira de ensayo de
- 50

análisis es para la detección del analito en un rango superior.

13. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según la reivindicación 12 en el que el segundo análisis tiene una cantidad mayor de reactivo de unión marcado que la primera tira de ensayo de análisis.
- 5 14. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el primer análisis comprende un reactivo de unión marcado para el analito previsto aguas arriba de una zona de detección y el segundo análisis comprende un reactivo de unión marcado para el analito y un segundo reactivo de unión marcado para el analito previsto aguas arriba de la zona de detección.
15. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según las reivindicaciones 13 y 14 en el que el primer análisis comprende una zona de referencia compartida y el segundo análisis comprende una zona de control compartida.
- 10 16. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según la reivindicación 15, en el que la zona de referencia está prevista aguas abajo de la zona de detección.
17. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según las reivindicaciones 15 y 16, en el que la zona de control está prevista aguas abajo de la zona de detección.
- 15 18. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que un fotodetector detecta luz procedente de una pluralidad de zonas.
19. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según las reivindicaciones 4 a 18, que comprende una solo fotodetector para detectar luz procedente de las dos zonas de detección, la zona de referencia y una zona de control.
20. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según las reivindicaciones 4 a 19 que comprende cuatro fuentes de luz para iluminar las dos zonas de detección, la zona de referencia y una zona de control.
- 20 21. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de luz detectada por el fotodetector o fotodetectores procedente de las zonas de detección y la zona de referencia es medida antes de la adición de la muestra al dispositivo de análisis y otra vez después de la adición de la muestra al dispositivo de análisis, y una relación de las dos mediciones, antes y después de la adición de la muestra, calculada para cada zona.
- 25 22. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las fuentes de luz comprenden uno o más LED.
23. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el analito que ha de ser determinado es hCG.
- 30 24. Un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la muestra de líquido es orina.
25. Un método para realizar un análisis para determinar la presencia y/o cantidad de un analito en una muestra de líquido, comprendiendo el método la operación de poner en contacto la muestra con la región de aplicación de muestra común de un dispositivo de análisis con dispositivo de lectura según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

35



*Fig. 1*

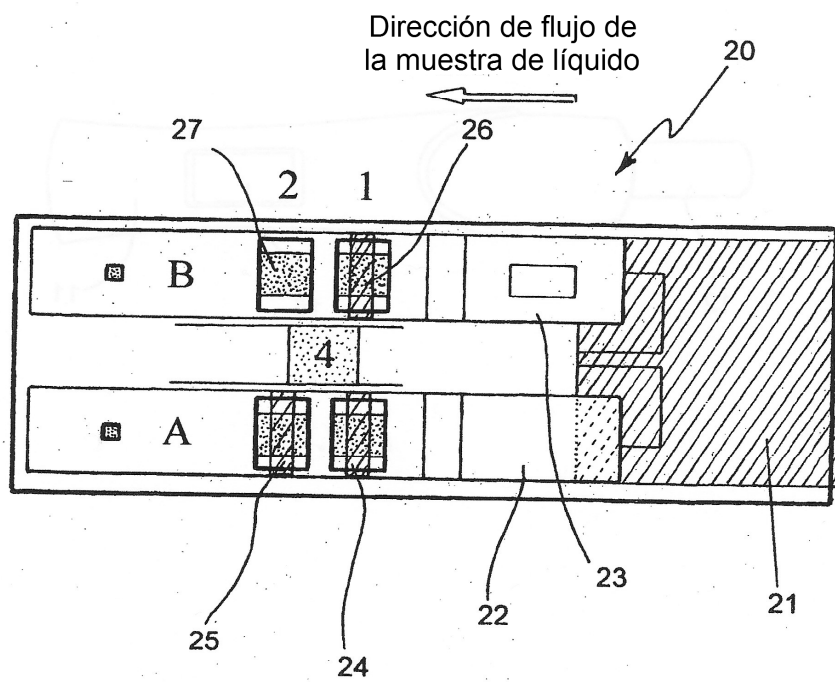
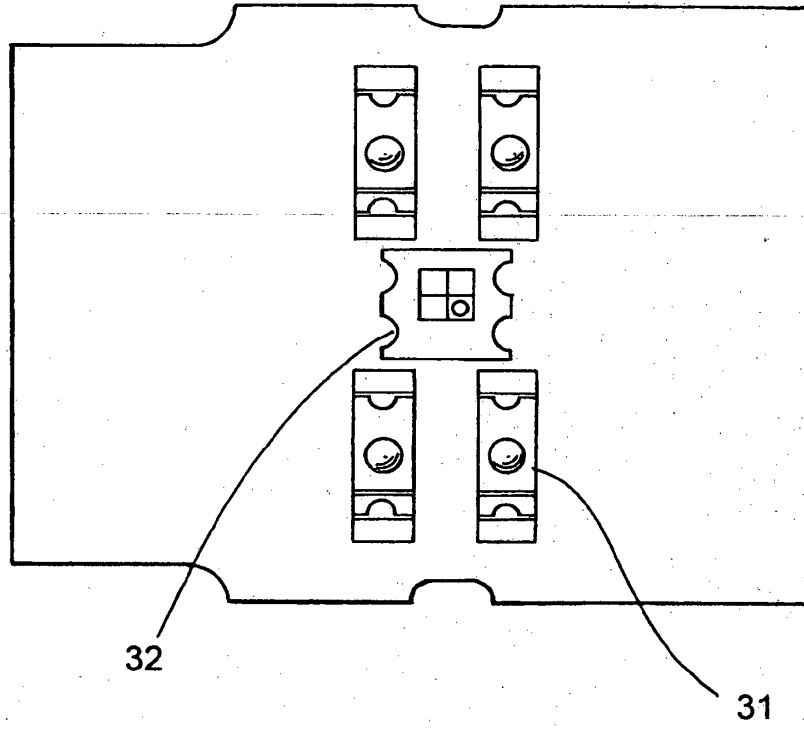
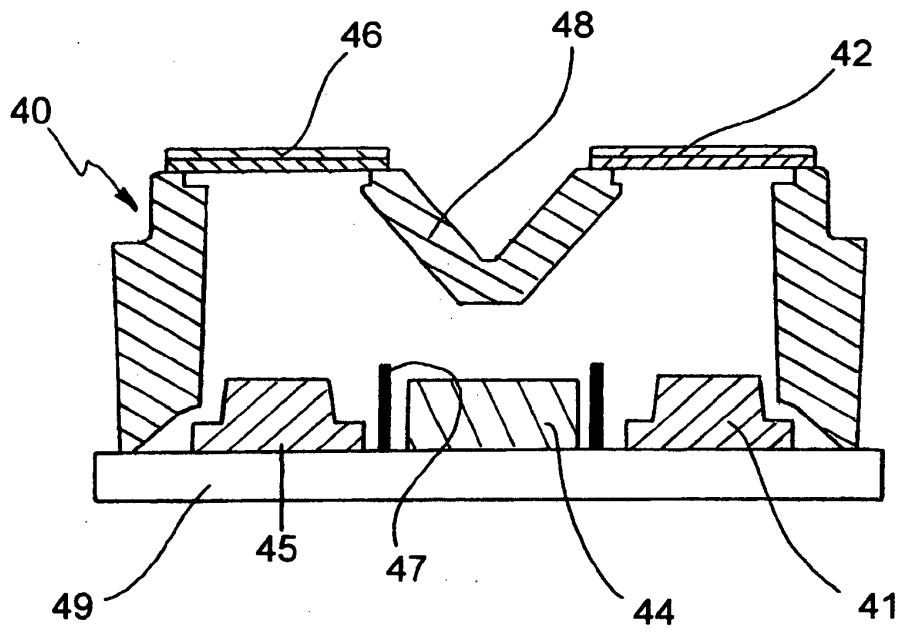


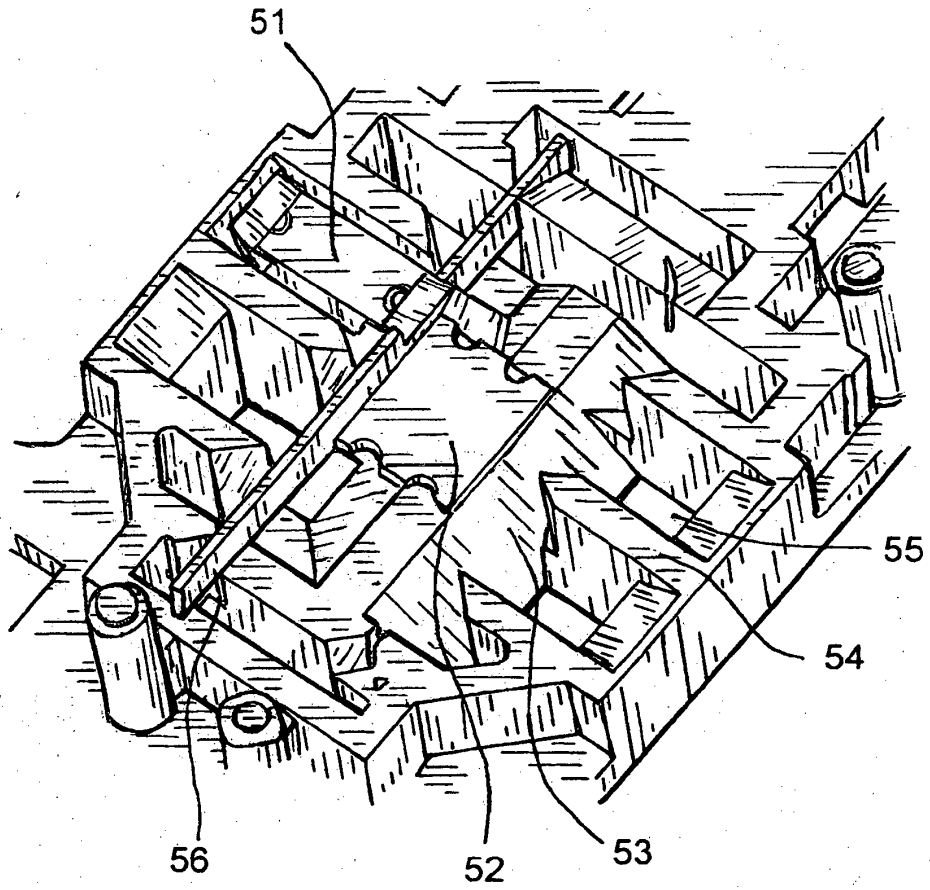
Fig. 2



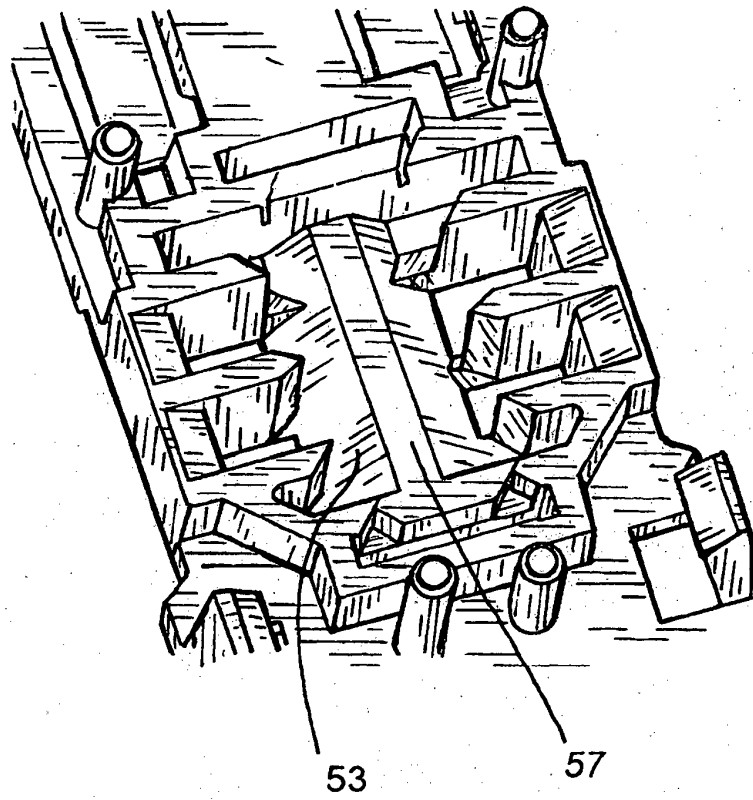
*Fig.3*



*Fig. 4*

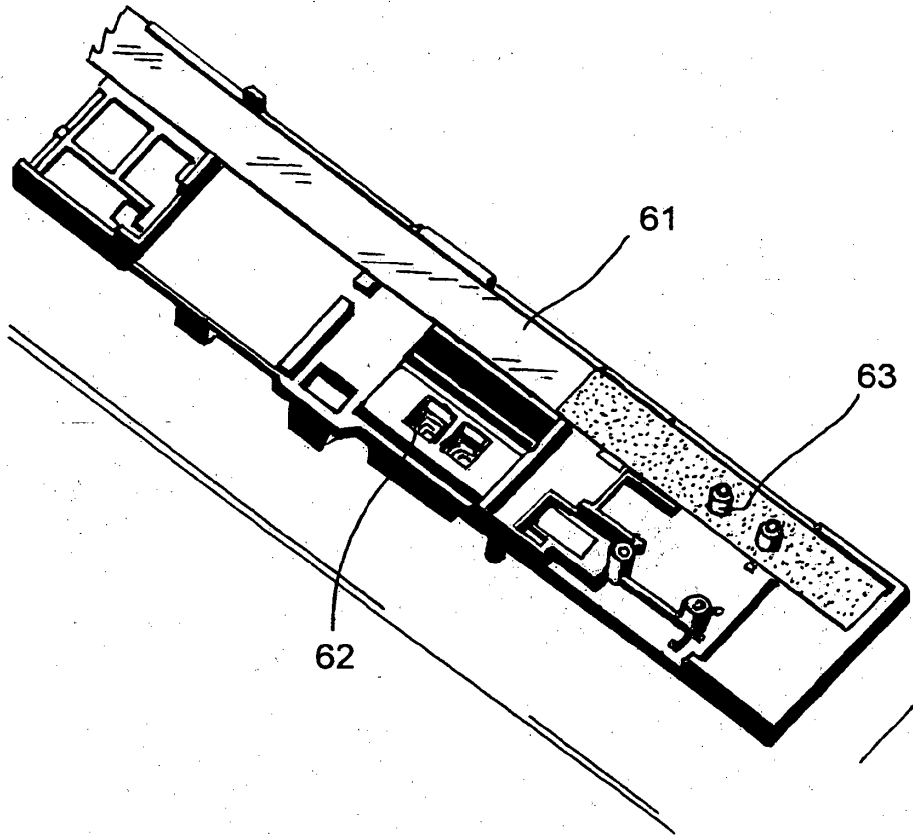


*Fig. 5a*



*Fig. 5b*





*Fig. 6*