

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 640 019**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2013 PCT/EP2013/055770**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.09.2013 WO13139829**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2013 E 13713389 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.07.2017 EP 2828402**

54 Título: **Dispositivo para la detección de analitos en bioensayos de afinidad**

30 Prioridad:

21.03.2012 EP 12382104

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

31.10.2017

73 Titular/es:

**VIRCELL, S.L. (100.0%)
Polígono Industrial Dos de Octubre, Plaza
Dominguez Ortiz, 1
18320 Santa Fe (Granada), ES**

72 Inventor/es:

**MENDOZA MONTERO, JOAQUÍN;
ROJAS GONZÁLEZ, ALMUDENA y
MENDOZA LÓPEZ, PABLO**

74 Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

ES 2 640 019 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 para la detección de analitos en bioensayos de afinidad

- 5 La presente invención se refiere a dispositivos para analizar una muestra de fluido y en concreto a dispositivos para la detección de analitos en bioensayos de afinidad. La invención se refiere además al uso de tales dispositivos para la detección de analitos de una reacción de amplificación del ácido nucleico como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- 10 Además, la invención se refiere a kits de detección que comprenden dichos dispositivos y una tira reactiva.

ESTADO DE LA TÉCNICA

- 15 El análisis de muestras biológicas relevantes para el diagnóstico para la detección de patógenos infecciosos está adquiriendo importancia en los últimos años. Uno de los métodos más ampliamente utilizados para la identificación de patógenos implica el uso de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la amplificación de fragmentos deseados de ácidos nucleicos que posteriormente pueden ser detectados utilizando cualquier ensayo conocido.

- 20 La amplificación por PCR es muy bien conocida por su velocidad, facilidad de uso, sensibilidad y robustez, puesto que las muestras de baja calidad también pueden ser analizadas. La amplificación por PCR de ácidos nucleicos de objetivo específicos, por ejemplo un gen o un fragmento del gen de un patógeno en concreto, es habitualmente seguida por la detección de los productos amplificados, por ejemplo, por medio de un bioensayo de afinidad/unión.

- 25 Por bioensayo afinidad o unión se quiere decir un tipo de ensayo para detectar bioanalitos por medio de la interacción específica de una fracción de fijación con el bioanalito objetivo, siendo tales fracciones de fijación moléculas o segmentos de molécula capaces de unirse específicamente al bioanalito objetivo. La naturaleza del bioanalito a menudo determina la molécula de unión a ser utilizada en su detección. Habitualmente, los bioensayos de afinidad o de unión utilizan un soporte sólido en el cual se deposita la fracción de fijación. Estos ensayos de unión / afinidad son ensayos muy conocidos utilizados en biotecnología.

- 30 Un inconveniente muy conocido del diagnóstico de patógenos infecciosos por medio de PCR es que la contaminación puede producirse fácilmente lo cual conduce a falsos positivos. Se sabe que una de las principales causas de resultados falsos positivos se refiere a la contaminación de los productos de amplificación de PCR, debido a su manipulación antes de o durante la detección. Por tanto, es deseable reducir tal riesgo de contaminación.

- 35 Un grado de reducción de falsos positivos se ha obtenido mediante la realización de reacciones de PCR en ambientes cerrados combinando los procesos de amplificación y detección. Por ejemplo, el documento US2010291668 divulga tal dispositivo. Otros sistemas pueden comprender un elemento que permite la fijación al tubo de reacción, una vez que la PCR se ha completado, en el cual dicho elemento y el tubo de reacción pueden estar conectados entre sí de forma estanca.

- 45 Más aún, los dispositivos de detección portátiles también se están desarrollando, los cuales mantienen la muestra en un entorno relativamente cerrado, son relativamente fáciles de manipular y son relativamente económicos. Por ejemplo EP2048245 y US20090181388 describen tal dispositivo, pero este tipo de solución puede ser relativamente engorrosa de manejar y por lo tanto el proceso de detección puede ser costoso de automatizar. Además, dichos dispositivos no son muy versátiles cuando hay más de una muestra amplificada para ser detectada, especialmente, al mismo tiempo.

- 50 Por lo tanto existe una necesidad de proporcionar un dispositivo para la detección de analitos, y en particular los productos de amplificación de PCR, en bioensayos de afinidad que sea simple de operar y económico a la vez que evite la contaminación, y que también permita una automatización fácil del proceso de detección.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

- 55 La presente invención se refiere de manera general a un dispositivo para la detección de analitos en bioensayos de afinidad según se define en la reivindicación 1. El dispositivo comprende al menos una porción de pared transparente, al menos un ahuecamiento de prueba adaptado para recibir al menos una tira reactiva y dispuesto de tal manera que dicha tira reactiva sea visible a través de la porción de pared transparente, al menos una cavidad adaptada para recibir un recipiente que contiene una muestra fluida, estando dicha cavidad en comunicación fluida con dicho al menos un ahuecamiento de prueba, y medios de perforación dispuestos en correspondencia con dicha al menos una cavidad, de tal manera que al presionar hacia abajo un recipiente hacia dentro de la cavidad, hacia el final del movimiento de presión hacia abajo, una porción inferior del recipiente se apoya contra los medios de

perforación con lo que el recipiente es perforado y al menos una porción de la muestra es liberada del recipiente y alcanza al ahuecamiento de prueba; en el que la porción de pared transparente está dispuesta en un lado del dispositivo que es opuesto a aquel en el cual se proporciona la al menos una cavidad; en el que la presencia de dicha porción de pared transparente a través de la cual es visible la tira reactiva permite leer los resultados desde afuera del dispositivo. El dispositivo funciona como una unidad de detección sustancialmente cerrada en combinación con una tira reactiva para la detección de los analitos, por ejemplo analitos de un ácido nucleico amplificado. La contaminación de la muestra puede ser evitada debido a que el recipiente es perforado sólo una vez que está dentro del dispositivo, y es entonces cuando la muestra es liberada en la tira reactiva. La contaminación de la muestra puede ser evitada, además, debido a que la inserción del recipiente en el dispositivo no implica la apertura del dispositivo. El dispositivo puede estar hecho de una sola pieza y cuando se fabrica a partir de varias piezas puede estar sellado. El dispositivo no requiere ninguna disposición especial o manipulación, sino sólo la inserción del recipiente con la muestra en la cavidad. El recipiente es presionado hacia dentro de la cavidad, y hacia el final del movimiento, la porción inferior del recipiente se apoya contra la cuchilla u otros medios de perforación, y por lo tanto, se perfora. Esto significa que es el mismo movimiento de introducción del recipiente en la cavidad, es decir, el movimiento para presionar el recipiente hacia abajo dentro de la cavidad, el que provoca la perforación del recipiente. Esto es una consecuencia directa de disponer los medios de perforación en correspondencia con la cavidad de manera tal que al insertar el recipiente en la cavidad el recipiente es perforado. De esta manera, es bastante fácil de manejar y el proceso de detección puede ser automatizado fácilmente dado que la única acción que necesita automatización es en una dirección, la dirección de inserción del recipiente con la muestra en el dispositivo o, lo que es lo mismo, la dirección de presionar hacia abajo el recipiente dentro de la cavidad. Por tanto, también es una solución económica.

Además, la presencia de una porción de pared transparente a través del cual la tira reactiva es visible permite la lectura de los resultados desde fuera del dispositivo. La porción de pared transparente está dispuesta en un lado del dispositivo que es opuesto a aquel en el cual puede proporcionarse la al menos una cavidad. De esta manera, el dispositivo se puede disponer fácilmente por ejemplo en un bloque térmico (termobloque), a través del cual la temperatura puede ser controlada relativamente fácil. Esto puede ser de interés concreto en aplicaciones en las cuales la reacción de detección es una hibridación de ADN en la cual el control de la temperatura puede ser importante.

Más aún, en algunas aplicaciones en cuales la tira reactiva puede comprender un gran número de líneas o alternativamente una matriz de puntos, la porción de pared transparente puede ser colocada fácilmente en un escáner para la interpretación automática de los resultados.

En algunas realizaciones, el dispositivo puede comprender, además, al menos una abertura dispuesta en una pared del ahuecamiento de prueba, opuesta a la porción de pared transparente. La al menos una abertura puede estar dispuesta para permitir la comunicación fluida entre el ahuecamiento de prueba y un espacio hueco interno del dispositivo. Tales aberturas mejoran la lectura de la tira de reactiva ya que cualquier evaporación de la muestra liberada puede pasar a través de las aberturas al espacio hueco interno y expandirse, en lugar de condensarse en la porción de pared transparente del ahuecamiento de prueba. Estas realizaciones son especialmente adecuadas para reacciones que tienen lugar a alta temperatura tales como, por ejemplo, la hibridación ADN-ADN.

En algunas realizaciones, el dispositivo puede comprender dos o más cavidades adaptadas para recibir un recipiente que contiene una muestra. De esta manera, dos o más muestras, por ejemplo, muestras de productos de amplificación de PCR, se pueden detectar al mismo tiempo y en la misma tira reactiva. En algunos de estos casos, la reacción de detección puede ser una hibridación de ADN y la tira reactiva puede estar provista de reactivos químicos deshidratados utilizados para la reacción de hibridación. Estos tipos de ensayos, llamados "ensayos multitest", son de interés especial en aquellos casos en los cuales sería deseable detectar más de un producto de amplificación de PCR puesto que mezclar diversos productos de amplificación de PCR puede ir, al menos en parte, en contra de su eficiencia. En realizaciones alternativas, las cavidades adicionales pueden ser utilizadas para los reactivos que pueden ayudar con la reacción de detección. De esta manera, tras la liberación de los fluidos de los recipientes que pueden estar insertados en las cavidades, los fluidos pueden ponerse en contacto con la tira reactiva simultáneamente o en una manera escalonada. Estos reactivos se pueden utilizar, por ejemplo, para mejorar el rendimiento de reacción. Por ejemplo, el uso de una solución de lavado astringente puede mejorar la especificidad de la prueba, lo que reduce la señal de fondo. En otro ejemplo, los conjugados o los reactivos de desarrollo pueden añadirse utilizando la segunda (o tercera) cavidad, después de la introducción del primer recipiente con la muestra en la primera cavidad.

En algunas de estas realizaciones que comprenden dos o más cavidades, al menos dos cavidades pueden estar dispuestas en un ángulo y pueden ser convergentes hacia la misma zona del ahuecamiento de prueba. De esta manera, los fluidos contenidos en cada recipiente insertado en cada cavidad pueden reaccionar simultáneamente en una tira reactiva proporcionada en el ahuecamiento de prueba. En otras realizaciones, al menos dos cavidades pueden estar dispuestas en un ángulo y pueden estar dirigidas hacia zonas diferentes del ahuecamiento de prueba.

De esta manera, las reacciones de los fluidos contenidos en los recipientes insertados en estas cavidades pueden ser consecutivas. Esta alternativa es especialmente interesante en aquellos casos en los cuales las cavidades adicionales contienen los reactivos.

5 En algunas realizaciones, al menos una cavidad puede comprender una porción de protuberancia dispuesta en una pared de la cavidad de tal manera que cuando el recipiente que contiene una muestra se inserta en la cavidad, la porción de protuberancia genera un incremento de presión dentro del recipiente. Tal incremento de presión dentro del recipiente asegura la liberación de la muestra fuera del recipiente y hacia el ahuecamiento de prueba una vez que el recipiente introducido en la cavidad y es por tanto perforado.

10 En algunas realizaciones, el dispositivo puede ser un dispositivo desechable de un solo uso y la unidad desechada puede ser dejada en un lugar seguro.

Otro aspecto se refiere al uso de un dispositivo sustancialmente según se ha descrito anteriormente para la
15 detección de analitos de una reacción de amplificación del ácido nucleico.

En un aspecto adicional se proporciona un kit de detección que comprende un dispositivo sustancialmente según se ha descrito anteriormente y una tira reactiva. La tira reactiva puede tener al menos una zona de ensayo que comprende los reactivos químicos deshidratados utilizados para los bioensayos de afinidad.

20 En algunas realizaciones, la tira reactiva puede comprender además una zona de control y la zona de ensayo puede comprender una almohadilla que tiene los reactivos químicos deshidratados utilizados para la reacción de hibridación. En otros casos, también puede comprender además una zona de control y la zona de ensayo puede comprender los reactivos químicos deshidratados utilizados para un inmunoensayo.

25 Otros objetos, ventajas y características de realizaciones de la invención serán evidentes para aquellos expertos en la materia examinando la descripción, o se pueden aprender por la práctica de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

30 A continuación se describen realizaciones particulares de la presente invención por medio de ejemplos no limitantes, con referencia a los dibujos adjuntos, en los cuales:

La figura 1 muestra una vista explosionada de un dispositivo de acuerdo con una primera realización;

35 La figura 2 muestra una vista lateral del dispositivo de la figura 1;

La figura 3 muestra una vista en perspectiva del dispositivo de la figura 1;

40 La figura 4 muestra una vista en planta de un dispositivo de acuerdo con una segunda realización;

La figura 5 muestra una vista explosionada del dispositivo de la figura 4;

Las figuras 6a y 6b muestran, respectivamente, una vista frontal y una vista lateral del dispositivo de la figura 4;

45 La figura 7 muestra una vista inferior del dispositivo de la figura 4; y

Las figuras 8a a 8f muestran otra realización.

50 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES

La figura 1 muestra una vista explosionada de un dispositivo de acuerdo con una primera realización. La figura 1 muestra un dispositivo que puede estar hecho a partir de dos primeros cuerpos 1 y una cubierta 2. Cada primer cuerpo 1 puede tener una primera concavidad 10 y una segunda concavidad 11. Los dos primeros cuerpos 1
55 pueden unirse entre sí con sus concavidades 10 y concavidades 11 coincidentes respectivamente (ver figura 3). De esta manera una cavidad (ver figura 3) puede ser definida por las dos primeras concavidades 10 y un alojamiento 9 (ver figura 2) puede ser definido por las dos segundas concavidades 11. En tal alojamiento 9 pueden disponerse medios de perforación, por ejemplo, una cuchilla 5.

60 Más aún, las segundas concavidades 11 pueden estar dispuestas en correspondencia con las primeras concavidades 10 de tal manera que la cuchilla 5 dispuesta en el alojamiento 9 puede proyectar dentro de la cavidad 3 y puede perforar un recipiente 4 cuando es insertado en la misma. De esta manera, con una sola acción o movimiento, es decir, insertando el recipiente dentro de la cavidad, el recipiente se coloca al mismo tiempo en la

cavidad y se perfora, y así la muestra puede liberarse. Además, este único movimiento puede realizarse en una única dirección: la dirección de presión hacia abajo. Esto significa que el dispositivo es bastante simple de operar y que el proceso de detección, incluyendo la introducción y perforación de recipientes, puede ser fácilmente automatizado.

5

Además, la figura 1 muestra que la cubierta 2, que puede ser una cubierta transparente, puede comprender una tercera concavidad (véase la flecha 21). Cuando la cubierta transparente 2 se monta junto con los dos primeros cuerpos 1, tal tercera concavidad 21 puede definir un ahuecamiento de prueba (ver figura 2) en comunicación fluida con la cavidad 3 definida por las dos primeras concavidades 10. Puede disponerse una tira reactiva 7 en el

10

ahuecamiento de prueba. La tira reactiva 7 puede estar dispuesta de tal manera que puede ser visible desde el exterior del dispositivo a través de la cubierta transparente 2. En implementaciones alternativas, se puede disponer más de una tira reactiva en el ahuecamiento de prueba. Debe entenderse que en otras implementaciones, se pueden prever otras maneras de formar el ahuecamiento de prueba, por ejemplo, salientes desde la cubierta como se muestra en el ejemplo de las figuras 8a – 8f.

La figura 2 muestra una vista lateral de la figura 1 en la cual un primer cuerpo se ha hecho transparente con el fin de mostrar el interior del dispositivo. La figura 2 muestra que el ahuecamiento de prueba 6 pueden estar en comunicación fluida con la cavidad 3 y que la cuchilla 5 puede perforar una porción inferior de un recipiente 4 insertado en la cavidad 3. Esto significa que al insertar el recipiente 4 en la cavidad 3, el recipiente 4 puede por tanto

20

perforarse y al menos una porción de la muestra es liberada del recipiente 4 y alcanza una tira reactiva 7 que puede estar dispuesta en el ahuecamiento de prueba 6.

La figura 3 muestra una vista en perspectiva de la figura 1. La figura 3 muestra una cavidad 3 que puede estar definida por las dos primeras concavidades 10. Un recipiente 4 que contiene una muestra de fluido puede ser

25

insertado en la cavidad 3.

La figura 4 muestra una vista en planta de un dispositivo de acuerdo con una segunda realización. Los mismos números de referencia se utilizarán para las partes coincidentes. La figura 4 muestra un dispositivo que puede tener dos cavidades 31 adaptadas para recibir un recipiente 4 que contiene una muestra de fluido. A diferencia del

30

ejemplo de la figura 1, el ejemplo de la figura 4 muestra un dispositivo que puede comprender un segundo cuerpo 8 que se puede montar entre los dos primeros cuerpos 1. Tal segundo cuerpo 8 puede tener dos cuartas concavidades 81. Cada cuarta concavidad 81 puede coincidir con una primera concavidad de los primeros cuerpos 1. De esta manera, cuando los cuerpos 1 y 8 están montados junto con la cubierta (ver figura 5), se pueden definir dos cavidades 31 en lugar de sólo una como en el ejemplo de la figura 1. Se debe entender que en otras

35

implementaciones más concavidades pueden estar presentes definiendo más cavidades. El dispositivo también puede hacerse en una sola pieza o de varias piezas o cuerpos sustancialmente según lo descrito anteriormente.

La figura 5 muestra una vista explosionada de la figura 4. La figura 5 muestra un segundo cuerpo 8, que puede comprender dos cuartas concavidades 81. Cada cuarta concavidad 81 junto con cada primera concavidad 10

40

provista en los dos primeros cuerpos 1 puede definir una cavidad (Ver figura 4). La figura 5 muestra que las cuartas concavidades 81 pueden estar cada una en correspondencia con una cuchilla 51 de tal manera que cuando un recipiente 4 se inserta en cada cavidad 31 una cuchilla 51 se proyecta en cada cavidad 31 y perfora una porción inferior de cada recipiente 4.

Las figuras 6a y 6b muestran, respectivamente, una vista frontal y una vista lateral de la figura 4 en las cuales los primeros cuerpos se han hecho transparentes con el fin de mostrar el interior del dispositivo.

La figura 6a muestra dos recipientes 4 que pueden ser insertados en las dos cavidades (ver figura 4). Un eje de simetría 41 de cada recipiente 4 muestra que cuando están insertados en las cavidades pueden estar dispuestos en un ángulo α y pueden ser convergentes hacia la misma porción de la tercera concavidad 21 provista en la cubierta 2 en la cual puede haber dispuesta una tira reactiva. De esta manera, dos muestras diferentes contenidas en dos recipientes 4 diferentes insertados en las dos cavidades pueden fluir hacia la misma zona y pueden reaccionar de forma simultánea en la tira reactiva 7. En una realización preferida, en un ejemplo de un dispositivo que tiene dos cavidades, el ángulo α puede ser alrededor de 30 °.

45

En realizaciones alternativas, las dos cavidades pueden estar dispuestas en un ángulo y pueden estar dirigidas hacia zonas diferentes del ahuecamiento de prueba en el cual puede disponerse una tira reactiva. De esta manera, las reacciones de los fluidos contenidos en los recipientes insertados en las cavidades pueden ser consecutivas y una muestra se puede hacer reaccionar con reactivos diferentes consecutivamente.

La figura 6b muestra que las cuchillas 51 (sólo se muestra una) están dispuestas con una inclinación β con respecto a la horizontal. Así las cuchillas 51 pueden perforar una porción inferior de un recipiente 4 cuando es insertado en cada cavidad 31. De esta manera, al menos una porción de muestra es liberada del recipiente 4 y alcanza una tira

60

reactiva 7 que puede estar dispuesta en el ahuecamiento de prueba. En una realización preferida, en un ejemplo de un dispositivo que tiene dos cavidades, el ángulo β puede ser alrededor de 13° .

La figura 7 muestra una vista desde abajo del dispositivo de la figura 4. La tira reactiva 7 puede ser visible desde el exterior del dispositivo a través de la cubierta transparente 2. Más aún, la figura 7 muestra los dos recipientes 4 que convergen hacia la misma porción del ahuecamiento de prueba 6. La cubierta 2 puede ser una superficie plana sin protuberancias en ella y por lo tanto puede ser colocada fácilmente en un escáner (no mostrado) para la interpretación automática de los resultados. En realizaciones alternativas, otros tipos de lectores se pueden utilizar, portátiles o no, o el escáner puede combinarse con un ordenador que puede proporcionar resultados cuantitativos o cualitativos.

Además, la cubierta puede ser colocada fácilmente por ejemplo en un bloque térmico (termobloque) a través del cual la temperatura puede ser relativamente fácil de controlar. Esto puede ser de interés concreto en aplicaciones en las cuales la reacción de detección es una hibridación de ADN en la cual el control de la temperatura puede ser importante.

En algunas de las realizaciones anteriores, el bioanalito a ser detectado puede ser una molécula de ADN o de ARN. En algunos de estos casos, puede ser el producto de amplificación de una reacción de PCR. En este caso, la molécula de unión puede a menudo ser una sonda de hibridación, es decir, un fragmento de ADN o ARN de longitud variable (normalmente 100-1000 bases), el cual puede detectar la presencia de una secuencia objetivo que es complementaria a la secuencia en la sonda. Con ello la sonda se hibrida al ácido nucleico (ADN o ARN) cuya secuencia de base permite el apareamiento sonda-objetivo base debido a la complementariedad entre la sonda y el objetivo.

En otros, el bioanalito a ser detectado puede ser una proteína y por lo tanto la molécula de unión a ser utilizada puede ser un anticuerpo. Los bioensayos de afinidad que utilizan anticuerpos o moléculas que tienen funciones del tipo de las de los anticuerpos tales como aptámeros, son llamados generalmente inmunoensayos. Un ejemplo típico de un inmunoensayo es un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

La figura 8a muestra una vista en perspectiva de un dispositivo de acuerdo con una realización adicional. La figura 8b muestra una vista lateral, la figura 8c una vista en sección transversal a lo largo de la línea A-A de la figura 8b, la figura 8d muestra una vista inferior del dispositivo, la figura 8e muestra una sección longitudinal a lo largo de la línea B-B de la figura 8d y la figura 8f muestra una sección a lo largo de la línea C-C de la figura 8d. Se utilizarán los mismos números de referencia para las partes coincidentes.

Las figuras 8a-8c, 8e y 8f muestran un dispositivo que puede estar hecho de un primer cuerpo 91 y un segundo cuerpo 92. El primer cuerpo 91 puede estar dispuesto de una manera sustancialmente apilada sobre el segundo cuerpo 92. El primer cuerpo 91 puede comprender dos cavidades 911 adaptadas para recibir cada una de ellas un recipiente 4 que contiene una muestra de fluido.

La figura 8d muestra que el segundo cuerpo 92 puede comprender, además, un orificio 923 en correspondencia con las cavidades 911 del primer cuerpo 91 para permitir la inserción del recipiente y la comunicación fluida entre las cavidades 911 y un ahuecamiento de prueba 6 puede ser definido por el segundo cuerpo 92 y una cubierta transparente 93.

Como se muestra en la figura 8c, el primer cuerpo 91 y el segundo cuerpo 92 pueden comprender cada uno una o más muescas 912 y 922 para alojar una o más cuchillas 95. Las cuchillas 95 pueden además proyectarse en las cavidades 911 y el orificio 923 perforando por tanto un recipiente 4 cuando es presionado hacia abajo para su inserción.

La figura 8c muestra además que la cubierta transparente 93 puede alojarse en una concavidad 921 del segundo cuerpo 92. Como se muestra en la figura 8d, la cubierta transparente 93 puede permitir una vista desde el fondo del segundo cuerpo 92 cuando no hay una tira de prueba alojada en el ahuecamiento de prueba 6 y, cuando hay una tira de prueba (no mostrada) alojada en el ahuecamiento de prueba, puede ser leída desde el exterior a través de la cubierta transparente. El ahuecamiento de prueba 6 puede hacerse, por ejemplo, a partir de una protrusión continua 931 (véase también la figura 8f) de la cubierta transparente 93.

Las figuras 8d a 8f muestran que las aberturas 96 pueden estar dispuestas en una pared del ahuecamiento de prueba 6, opuesta a la cubierta transparente 93, para reducir la condensación dentro del ahuecamiento de prueba 6. Además, las aberturas 96 pueden estar dispuestas para permitir la comunicación de fluida entre el ahuecamiento de prueba 6 y un espacio hueco interno 97 del dispositivo dispuesto entre el primer cuerpo 91 y el segundo cuerpo 92 (véase la figura 8f). De esta manera, cualquier evaporación de la muestra liberada puede pasar a través de las

aberturas 96 hacia el espacio hueco interno 97 y expandirse, en lugar de condensarse en la cubierta transparente 93 del ahuecamiento de prueba.

En algunas realizaciones, un volumen del espacio hueco interno puede ser mayor que el del ahuecamiento de prueba. Esto mejora el paso de la evaporación de la muestra hacia el espacio hueco interno.

En las figuras 8d y 8e sólo se muestran tres aberturas 96, pero también es posible otro número e incluso es posible sólo una abertura.

10 La realización representada en las figuras 8a - 8f es especialmente adecuada para reacciones que tienen lugar a temperatura elevada, es decir, 37-60°C, por ejemplo, para la detección de productos de amplificación de ácido nucleico (PCR, SDA, TMA) detectando la reacción de hibridación ADN- ADN (no hapteno-antihapteno).

Aunque en el ejemplo representado en las figuras 8a - 8f están presentes dos cavidades, debe entenderse que en otras realizaciones, también se pueden prever otro número de cavidades e incluso sólo se puede proporcionar una cavidad. El dispositivo también puede estar hecho de una sola pieza o de varias piezas / cuerpos sustancialmente según se ha explicado anteriormente.

En algunas realizaciones, un dispositivo sustancialmente según lo descrito anteriormente puede comprender además una porción de protuberancia dispuesta en una pared de la al menos una cavidad. De esta manera, cuando el recipiente que contiene la muestra se inserta en la cavidad de la porción de protuberancia puede generar un incremento de presión dentro del recipiente. El tamaño de la al menos una cavidad puede depender del tamaño del recipiente que contiene la muestra que se utilizará. De esta manera, algo de presión puede tener que ser ejercida sobre el recipiente con el fin de encajarlo en la al menos una cavidad.

25 En algunas realizaciones, el recipiente que contiene una muestra puede ser cualquier recipiente cerrado, tal como tubos de microcentrifugación, por ejemplo, un recipiente con un fondo cónico y un tapón integral encajable conocido generalmente como Eppendorf. Una ventaja de un dispositivo sustancialmente según lo descrito anteriormente utilizado en combinación con un recipiente tal como un Eppendorf se refiere a evitar la necesidad de abrir el recipiente con la muestra después de, por ejemplo, haber llevado a cabo la reacción de amplificación y antes de o durante la detección. El dispositivo sólo necesita que se inserte en la al menos una cavidad el Eppendorf que contiene la muestra amplificada. Esto minimiza las posibilidades de contaminación de la muestra y, por lo tanto los falsos positivos en el análisis.

35 En algunas realizaciones, la tira reactiva puede ser reemplazada por cualquier soporte que tenga elementos de unión tal como un sustrato que tiene una superficie que contiene una o más unidades de captura sintética capaces de unirse específicamente con una unidad de unión sintética de un analito objetivo. Por ejemplo, el sustrato puede incluir una pluralidad de unidades de captura sintéticas que se colocan sobre el sustrato de manera de formar una o más líneas dirigibles. Tal sustrato puede ser colocado en el ahuecamiento de prueba del dispositivo a fin de evitar el movimiento del sustrato, aunque no necesariamente tiene que estar recubierto dentro del ahuecamiento de prueba. Pueden utilizarse una variedad de materiales como sustrato; tales materiales son conocidos por los expertos en la técnica.

45 En algunas realizaciones, el dispositivo puede comprender además un material de sellado dispuesto en parte de su superficie exterior o entre los diferentes cuerpos que forman el dispositivo. Esto puede ayudar a garantizar su cierre.

A pesar que esta invención ha sido divulgada en el contexto de algunas realizaciones y ejemplos preferidos, los expertos en la materia entenderán que la presente invención se extiende más allá de las realizaciones específicamente reveladas a otras realizaciones y/o usos alternativos de la invención y a las modificaciones evidentes y equivalentes de la misma. Más aún, la presente invención cubre todas las posibles combinaciones de las realizaciones particulares descritas. Así, se pretende que el alcance de la presente invención no se esté limitado por la divulgación de las realizaciones particulares descritas anteriormente, sino que dicho alcance venga determinado por una lectura razonable de las reivindicaciones que siguen.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo para la detección de analitos en bioensayos de afinidad que comprende:
 5 - al menos una porción de pared transparente (2; 93),
 - al menos un ahuecamiento de prueba (6) adaptado para recibir al menos una tira reactiva (7) y
 dispuesto de manera tal que dicha tira reactiva (7) sea visible a través de la porción de pared transparente (2; 93),
 - al menos una cavidad (3; 911) adaptada para recibir un recipiente (4) conteniendo una muestra fluida,
 estando dicha cavidad (3; 911) en comunicación fluida con dicho al menos un ahuecamiento de prueba (6), y
 10 - medios de perforación (5; 95) dispuestos en correspondencia con dicha al menos una cavidad (3;
 911), de tal manera que al presionar hacia abajo un recipiente (4) hacia dentro la cavidad (3; 911), hacia el final del
 movimiento de presión hacia abajo, una porción inferior del recipiente (4) se apoya contra los medios de perforación
 (5; 95) con lo que el recipiente (4) es perforado y al menos una porción de la muestra es liberada del recipiente (4) y
 alcanza el ahuecamiento de prueba (6), en el que la porción de pared transparente (2; 93) está dispuesta en un lado
 15 del dispositivo que es opuesto a aquel en el cual se proporciona la al menos una cavidad (3; 11); en el que la
 presencia de dicha porción de pared transparente (2; 93) a través de la cual la tira reactiva (7) es visible permite leer
 los resultados desde el exterior del dispositivo.
2. Dispositivo según la reivindicación 1, que comprende, además, una o más aberturas (96) en una pared
 20 del ahuecamiento de prueba (6) que es opuesta a la porción de pared transparente (2; 93), estando las aberturas
 (96) dispuestas para permitir comunicación fluida entre el ahuecamiento de prueba (6) y un espacio hueco interior
 (97) del dispositivo.
3. Dispositivo según la reivindicación 2, en el que un volumen del espacio hueco interior (97) es mayor
 25 que aquel del ahuecamiento de prueba (6).
4. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, que comprende dos o más cavidades
 (911) adaptadas para recibir un recipiente que contiene una muestra.
- 30 5. Dispositivo según la reivindicación 4, en el que al menos dos cavidades (911) están dispuestas en
 ángulo y son convergentes hacia la misma zona del ahuecamiento de prueba (6).
6. Dispositivo según la reivindicación 4, en el que al menos dos cavidades (911) están dispuestas en
 ángulo y son dirigidas hacia zona distintas del ahuecamiento de prueba (6).
 35
7. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que al menos una cavidad (3; 911)
 comprende una porción de protuberancia dispuesta en una pared de la cavidad de tal manera que cuando el
 recipiente (4) que contiene una muestra es insertado en la cavidad (3; 911), la porción de protuberancia genera un
 incremento de presión dentro del recipiente (4).
 40
8. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que los medios de perforación (5;
 95) son una o más cuchillas dispuestas de manera tal que cortan una porción del fondo del recipiente (4).
9. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 que comprende al menos dos cuerpos (1
 45 2; 8) que tienen concavidades (10, 11; 81) que definen la al menos una cavidad (3; 31) adaptada para recibir un
 recipiente (4) y el al menos un ahuecamiento (9) para alojar a los medios de perforación (5; 95).
10. Dispositivo según la reivindicación 9, que comprende además una cubierta transparente (2; 3) que
 tiene otra concavidad (21; 921) dispuesta de manera tal que el ahuecamiento de prueba (6) está definido entre los
 50 dos cuerpos (1; 92) y la otra concavidad de la cubierta transparente.
11. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que es un dispositivo desechable
 de un solo uso.
- 55 12. Kit de detección que comprende un dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 11 y una
 tira de ensayo que tiene al menos un área de ensayo que comprende reactivos químicos secos usados para
 bioensayos de afinidad.
13. Kit de detección según la reivindicación 12, en el que la tira de ensayo comprende además una zona
 60 de control y la zona de ensayo comprende una almohadilla que tiene los reactivos químicos secos usados para la
 reacción de hibridación.

14. Uso de un dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para la detección de analitos de una reacción de amplificación de ácido nucleico.

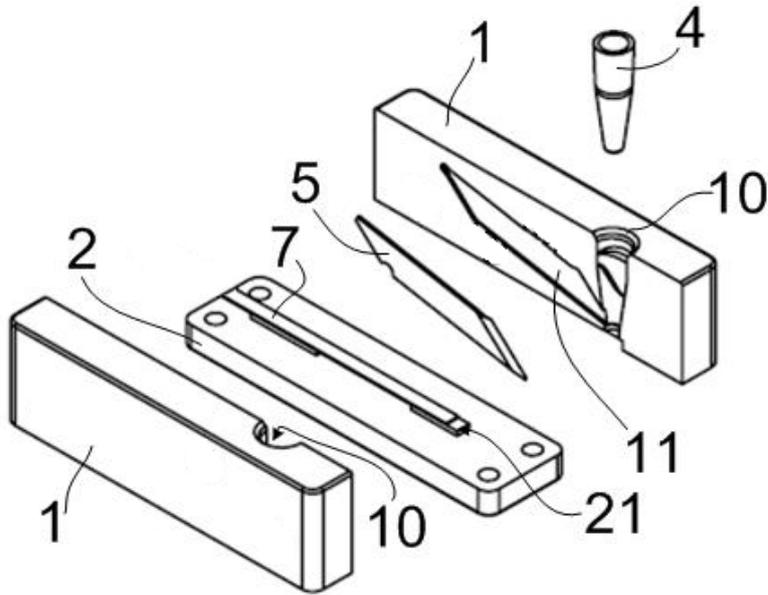


FIG. 1

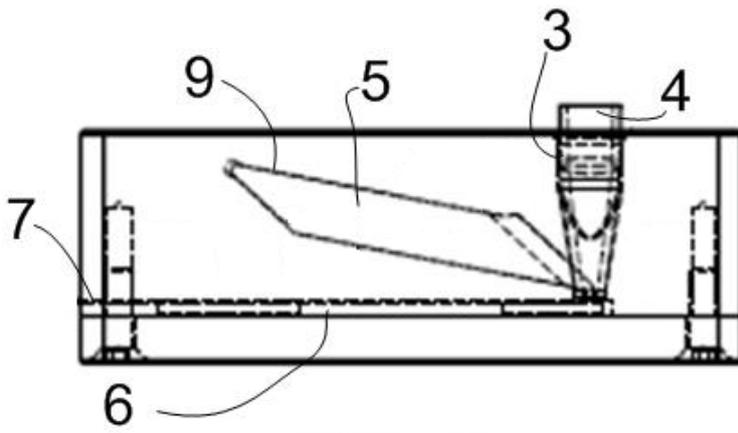


FIG. 2

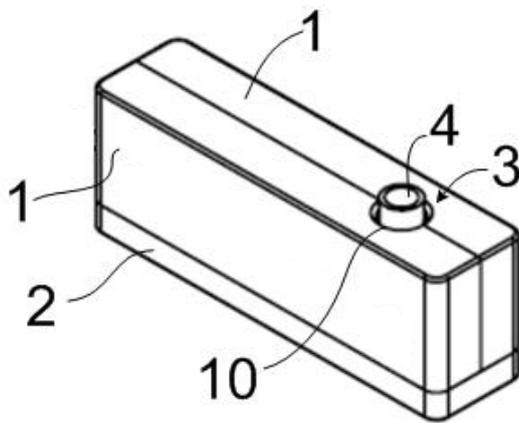


FIG. 3

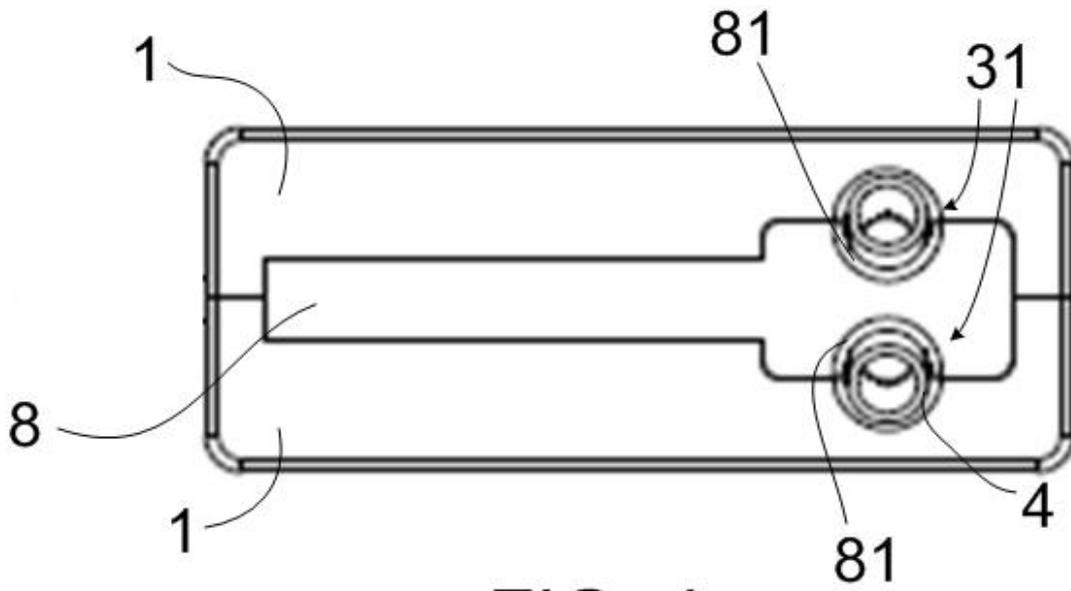


FIG. 4

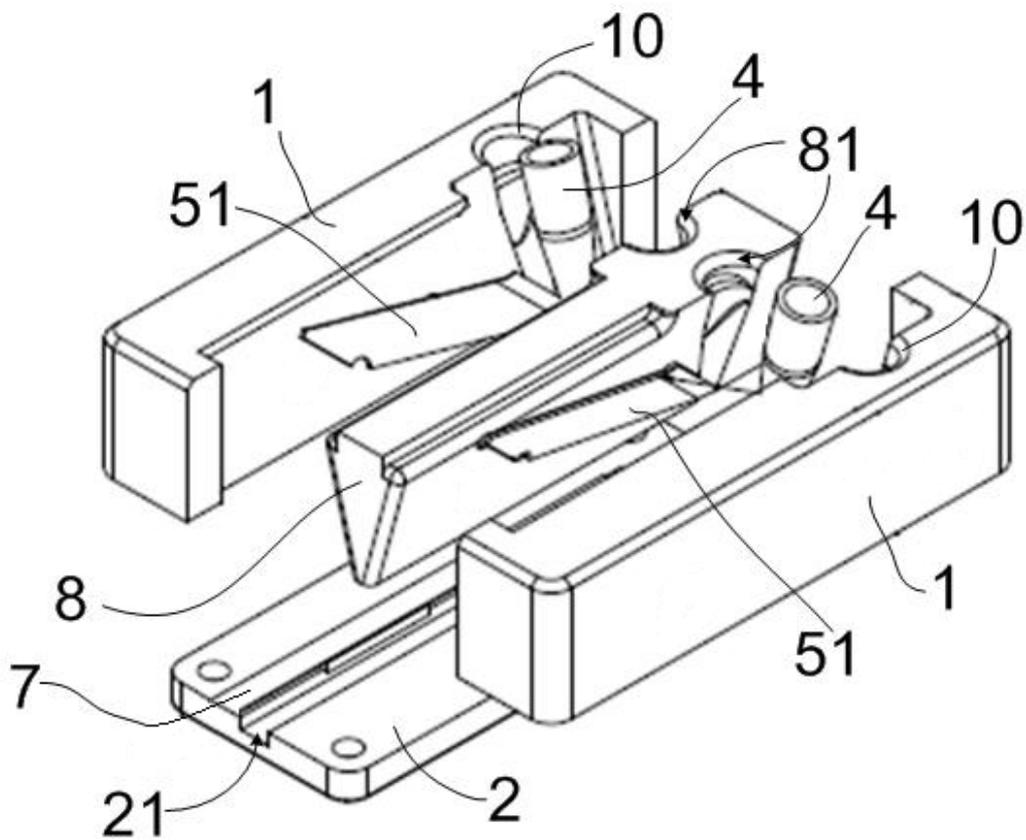


FIG. 5

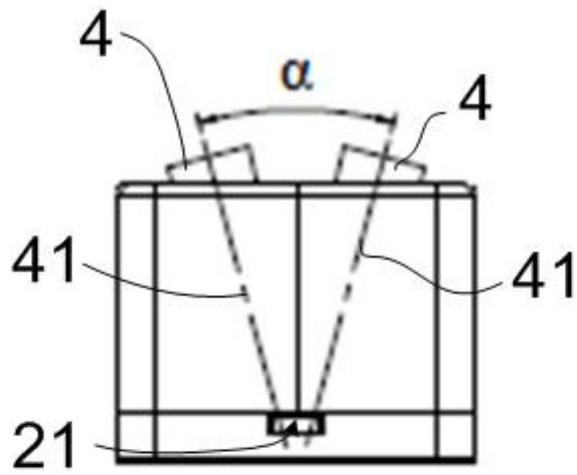


FIG. 6a

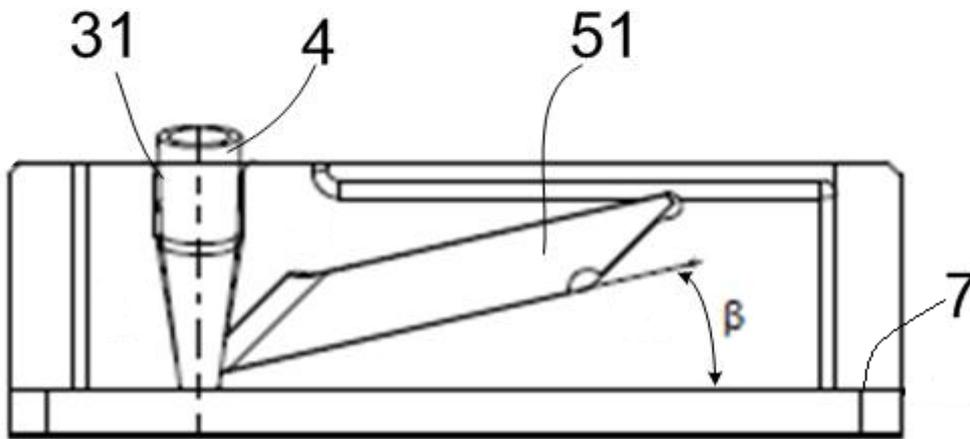


FIG. 6b

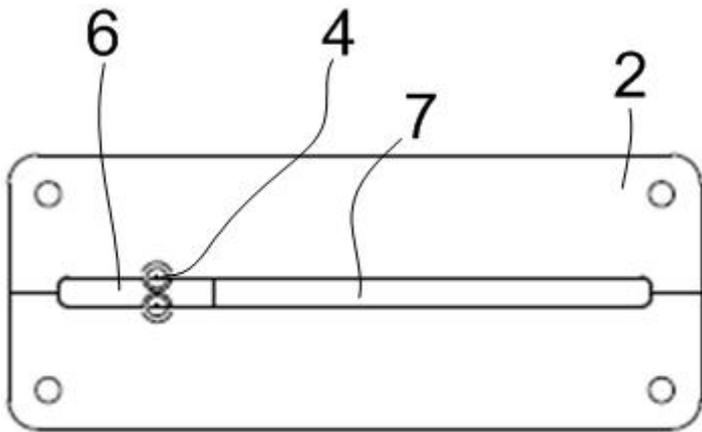


FIG. 7

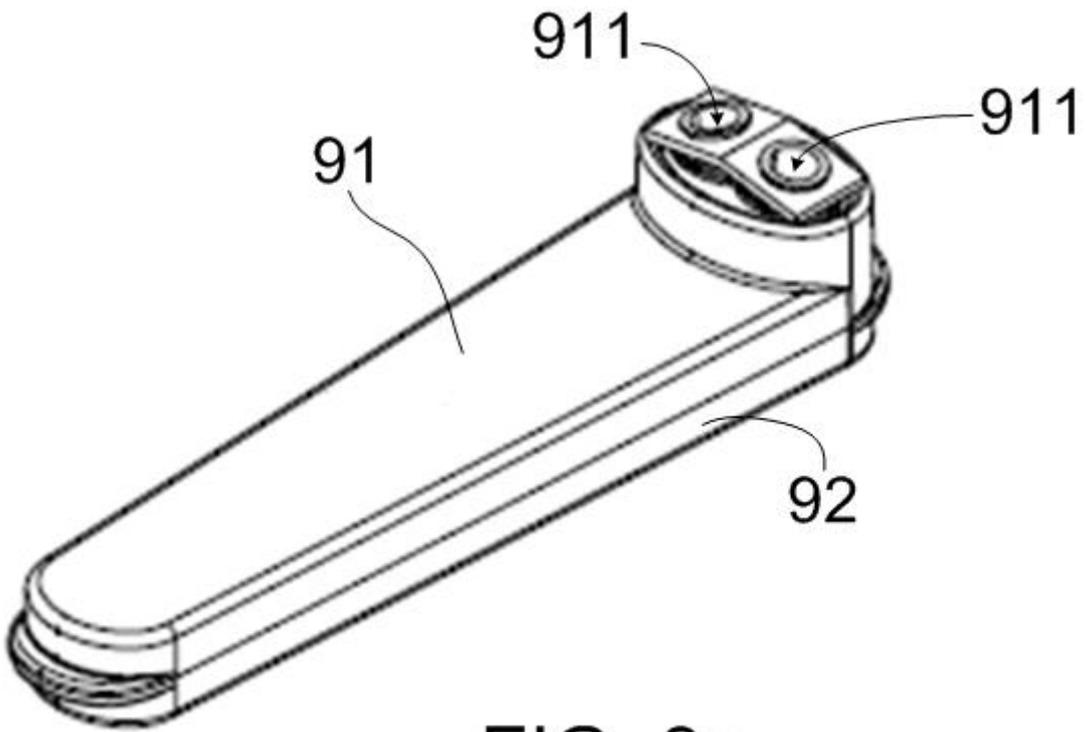
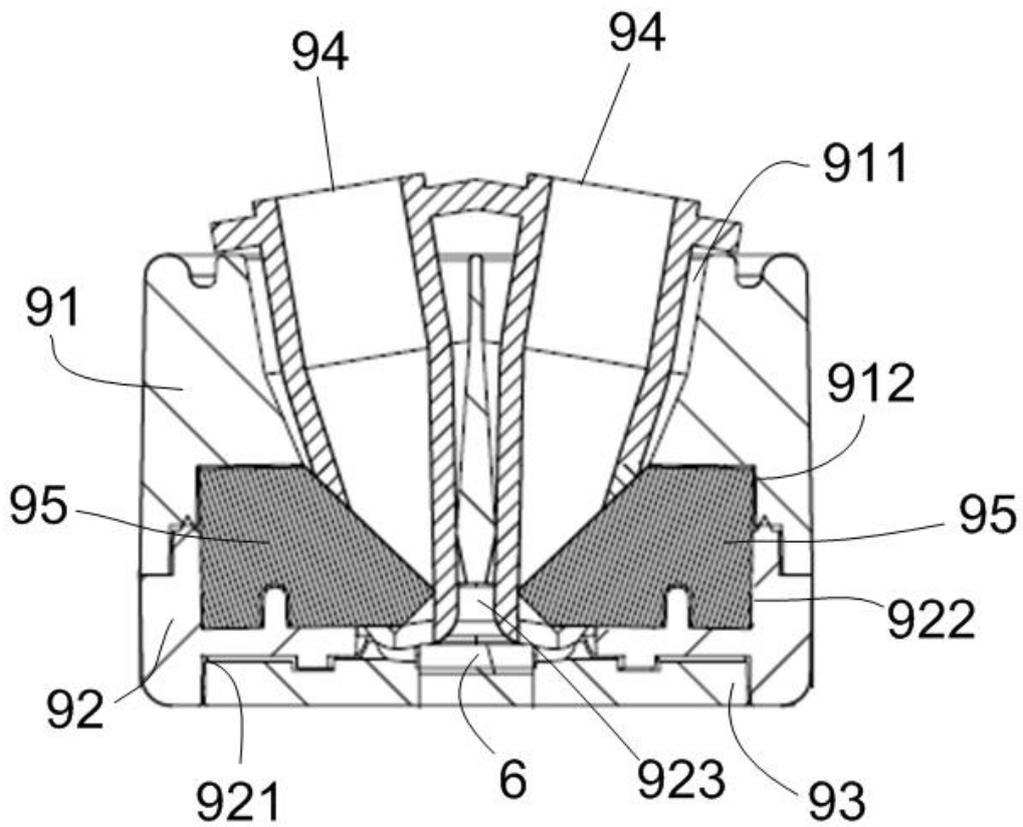
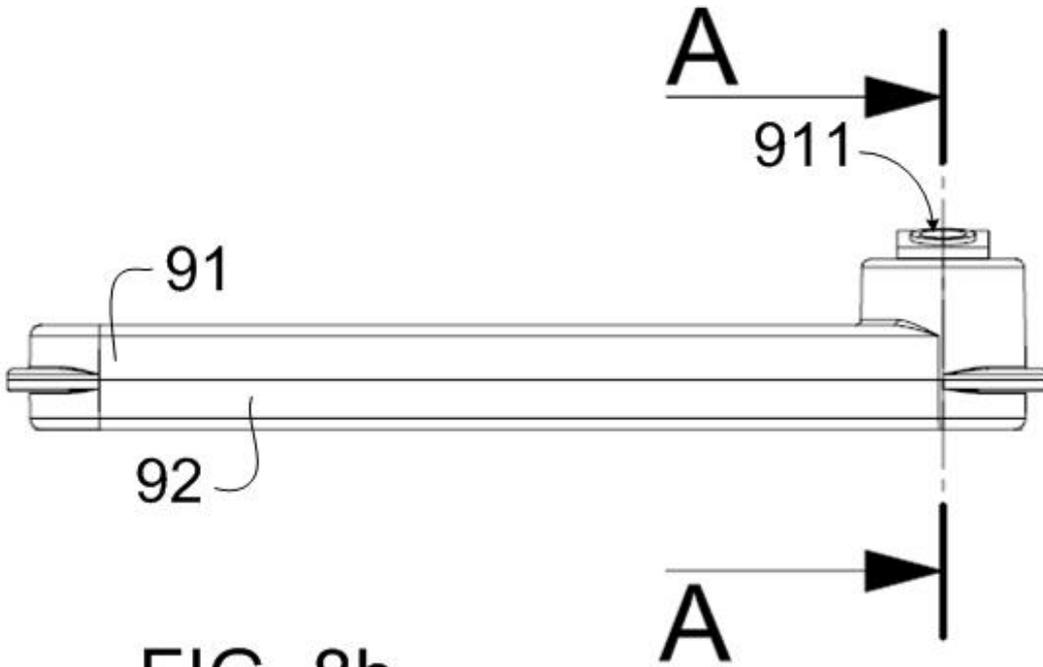


FIG. 8a



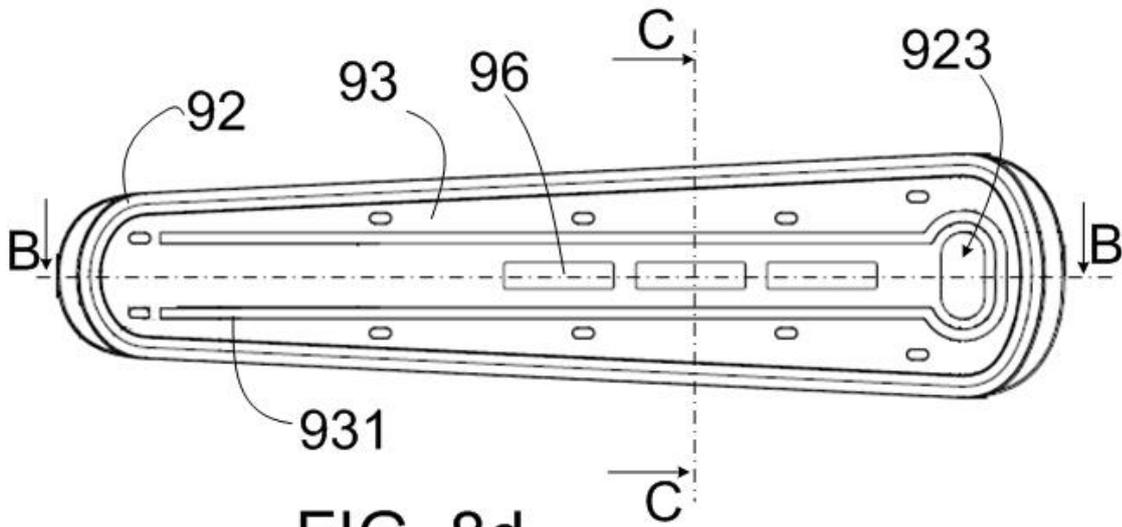


FIG. 8d

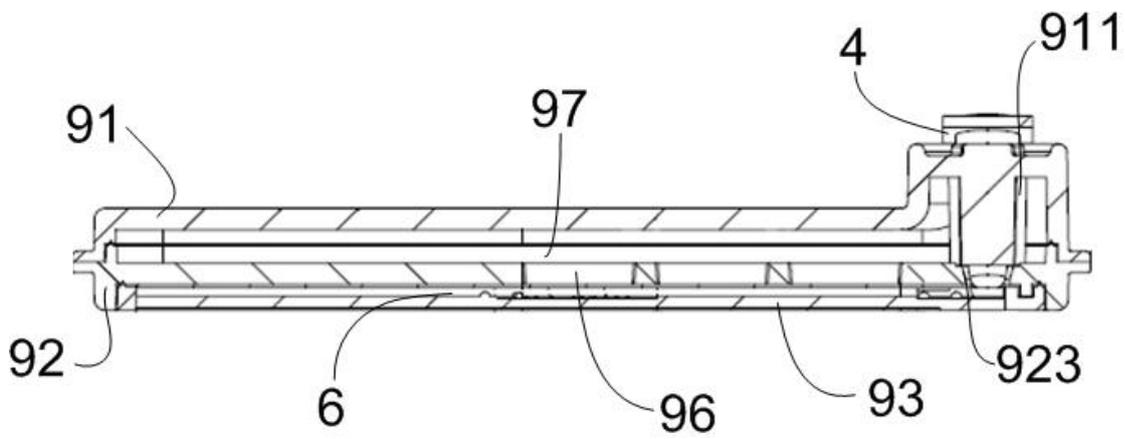


FIG. 8e
B-B

5

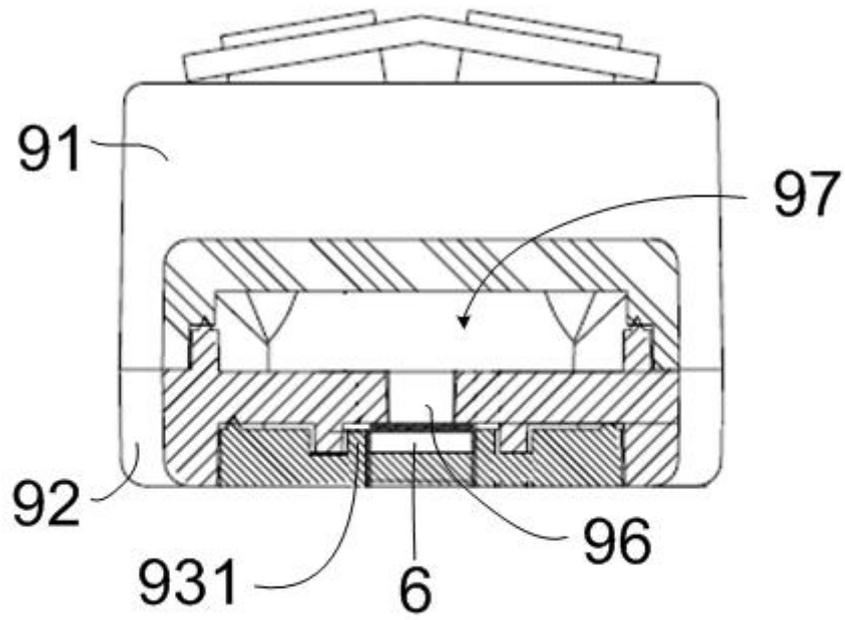


FIG. 8f
C-C

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.

Documentos de patentes citados en la descripción

- US 2010291668 A [0007]
- EP 2048245 A [0008]
- US 20090181388 A [0008]