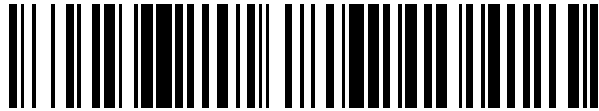


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 664 043**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.05.2014 PCT/EP2014/059894**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.12.2014 WO14191207**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2014 E 14723819 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 3003555**

54 Título: **Dispositivos de recogida de muestras biológicas con transferencia controlada y métodos de usar tales dispositivos**

30 Prioridad:

31.05.2013 GB 201309772

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

18.04.2018

73 Titular/es:

**GE HEALTHCARE UK LIMITED (100.0%)
Amersham Place
Little Chalfont, Buckinghamshire HP7 9NA, GB**

72 Inventor/es:

**TATNELL, PETER, JAMES;
SEYMOUR, GERAINT;
POTTS, CHERYL, LOUISE;
PIERCE, ALAN, STUART;
TORTORELLA, STEVAN, PAUL;
OGDEN, SAMANTHA, JANE y
WILLIAMS, NEIL, JOHN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 664 043 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

Dispositivos de recogida de muestras biológicas con transferencia controlada y métodos de usar tales dispositivos

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

5 La campo de la presente invención se relaciona con un dispositivo de recogida de muestras biológicas con transferencia controlada, que usa un medio de almacenamiento y transferencia sólido seco, y un método para la recogida de material biológico de interés, por ejemplo material genético o proteínico, en una forma adecuada para su almacenamiento temporal o a largo plazo y/o subsiguiente análisis. Específicamente, la presente invención proporciona un dispositivo de muestreo que controla la transferencia de la muestra biológica al medio de almacenamiento conteniendo el medio de almacenamiento y un miembro de recogida de la muestra móvil que tiene una superficie de recogida del analito.

Descripción de la técnica relacionada

15 La recogida de muestras biológicas (tal como sangre) y extracción del ADN para análisis genético a partir de la muestra se ha usado ampliamente por los forenses y la comunidad médica para fines de identificación, para pruebas de paternidad, para pruebas de diagnóstico genético en programas de revisión de recién nacidos, para tipificación genética para la predisposición a enfermedades y para caracterización genética para sensibilidad a fármacos. Sin embargo, debido a la naturaleza invasiva de la recogida de sangre, métodos no invasivos alternativos están siendo vistos favorablemente. Los métodos actuales implican raspar mucosa celular del interior de la cavidad bucal usando cualquiera de una serie de dispositivos diferentes tales como cepillos citológicos, torundas de algodón o de fibras artificiales, métodos de enjuague bucal y aclarado, torundas con punta de espuma y técnicas de recogida con papel de filtro celulósico soportado (conocido como método Bode). Estos métodos requieren métodos de extracción que requieren mucho tiempo y son trabajosos.

20 La introducción de medios de almacenamiento tratados en la comunidad de medicina forense ha modernizado significativamente la recogida y extracción de ADN de una variedad de muestras. Un medio tratado de este tipo está disponible comercialmente bajo el nombre comercial FTA® de Whatman, Inc. y se describe en uno o más de los siguientes documentos de patentes de EE.UU. US 6627226, US 6447804, US 6294203, US 6168922, US 5976572, US 5972386, US 5939259 y US 5756126. El medio se usa con un dispositivo de recogida plástico conocido como Easicollect® de Whatman Inc., y descrito en el documento de patente de EE.UU. US20100106057 (Harvey y otros). Este dispositivo de recogida conocido incluye un brazo que tiene una almohadilla de espuma colectora de células bucales en un extremo, cuyo brazo es manipulado para recoger células bucales, y es manipulado más allá para pivotar y, con ello, transferir esas células de la almohadilla de espuma a un medio FTA sostenido en un extremo opuesto del dispositivo.

35 Aunque esta técnica es adecuada, la transferencia de células bucales al medio tratado de una manera constante y reproducible sigue siendo un asunto de la habilidad del operador, lo cual no es ideal particularmente donde los operadores pueden usar el dispositivo pocas veces. La presión correcta y el tiempo del paso de transferencia son importantes y es esencial que el medio expuesto no se contamine mientras tiene lugar la transferencia.

40 Mejoras en el diseño del dispositivo se divulgaron en el documento de patente internacional WO2012/163788 (GE Healthcare), no obstante, los inventores se han dado cuenta de que son posibles aún más mejoras en la facilidad de uso y la prevención de contaminación. El documento de patente de EE.UU. US6372516 describe un dispositivo de prueba inmunocromatográfica.

Breve resumen de la invención

45 La presente invención se relaciona con un dispositivo de recogida de muestras biológicas con transferencia controlada, que usa un medio de transferencia y almacenamiento sólido seco, y un método para la recogida de material biológico de interés – una muestra (la cual puede ser material genético o proteínico) de una forma adecuada para su almacenamiento y/o subsiguiente análisis.

50 De acuerdo con un primer aspecto, la invención proporciona un dispositivo de recogida de material de muestra biológico con transferencia controlada, que comprende: un cuerpo que soporta de manera deslizante un miembro de recogida de muestras para recoger el material de muestra biológico de interés, alojando el cuerpo un medio tratado para almacenamiento en seco del material biológico, siendo el miembro de recogida móvil desde una posición expuesta en la que es posible la recogida de una muestra biológica, hasta una posición de transferencia en la cual se efectúa la transferencia de al menos una porción de la muestra recogida hasta el medio, en donde la envolvente incluye una porción de rampa operable para forzar al miembro de recogida hasta la posición de transferencia contra el medio y para efectuar dicha transferencia cuando el miembro de recogida deslice en el interior de la envolvente. El miembro de recogida incluye una porción deslizante en el interior de la envolvente, cuya porción deslizante porta el medio.

En una realización, el miembro de recogida incluye, además, un brazo acharnelado a la porción deslizante, cuyo brazo porta una almohadilla resiliente para la recogida de la muestra, en donde la porción deslizante y el brazo son plegables juntos para deslizar en el interior del cuerpo y, juntos, deslizar a través de dicha rampa para efectuar la transferencia.

- 5 En una realización, el brazo incluye una ranura, cuya ranura acepta la rampa para separar de este modo el medio y la almohadilla a continuación de la transferencia.

- 10 En una realización, la porción deslizante y el medio se pueden situar en el interior del cuerpo para ser sustancialmente encerrados por el cuerpo y, cuando están en esa posición, el brazo es capaz de adoptar dicha posición expuesta, y la porción deslizante y el medio se pueden situar más lejos para estar parcialmente en el interior del cuerpo pero siendo capaces de adoptar dicha posición plegada juntos con el brazo, para la re inserción conjunta en el interior del cuerpo y para efectuar dicha transferencia.

En una realización, la extensión del movimiento de la porción deslizante está limitada mediante topes sobre o dentro del cuerpo.

En una realización, el medio es extraíble de la porción deslizante, a continuación de dicha transferencia.

- 15 La invención está caracterizada más extensamente por las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1a es una vista en perspectiva de una realización preferida de la presente invención que muestra el dispositivo reivindicado en una posición inicial;

la figura 1b es una vista en planta del dispositivo mostrado en la figura 1;

- 20 las figuras 1c y 1d son secciones a través del dispositivo de la figura 1b;

las figuras 2a a la figura 6d son más vistas del dispositivo de la figura 1a en diferentes posiciones.

Descripción detallada de la invención

- 25 Una realización preferida se muestran la figura 1a. Se muestra un dispositivo de recogida (10) para una muestra biológica que contiene analitos obtenidos biológicamente degradables el cual comprende un cuerpo 12 que contiene de manera deslizante un miembro de recogida 20. El miembro de recogida tiene una porción de almacenamiento de la muestra en forma de una bandeja 22 para soportar un medio 30 de almacenamiento de la muestra. Ejemplos de material para el medio de almacenamiento adecuados para la presente invención incluyen papel de filtro no tratado, tal como el papel #903® (Whatman Inc., Florham Park, N.J. USA) o papeles de filtro tratados, tales como los papeles FTA y FTA Elute (también de Whatman Inc., Florham Park, N.J. USA). Estos medios tratados están descritos en los documentos de patentes de EE.UU. referidos arriba. Tales medios tratados proporcionan un método seguro y simple para la recogida, transporte y almacenamiento de muestras biológicas. También contienen elementos químicos los cuales hacen fácil aislar ADN a partir de muestras complejas tales como sangre. Las muestras recogidas sobre medios no tratados o tratados son secadas para su almacenamiento y pueden ser almacenadas a temperatura ambiente durante períodos de tiempo largos.

- 35 El miembro de recogida 20 incluye, además, un brazo 24 acharnelado con la porción de almacenamiento de la muestra por medio de una charnela 26 formada de plástico moldeado flexible. En el extremo distal del brazo 24 está fijada al brazo una almohadilla resiliente 28 de material polímero espumado, el cual actúa como un colector de muestra cuando se requiere.

- 40 En la posición mostrada en la figura 1a y 1b, el dispositivo está listo para ser usado para recoger una muestra biológica haciendo pasar rozando la almohadilla 28, o haciendo contacto de otra manera, sobre un área de interés, por ejemplo para recoger células bucales de la superficie de la mejilla interna de la boca de un sujeto.

- 45 La figura 1b muestra el dispositivo 10 en una vista en planta. La figura 1c muestra el dispositivo 10 en sección a lo largo de la línea A-A de la figura 1b y la figura 1d muestra el dispositivo en sección a lo largo de la línea B-B. Como puede verse con más detalle en las figuras 1c y 1d, la bandeja 22 sostiene un medio 30 de almacenamiento y la 22 es deslizante en el cuerpo 12 junto con el medio 30 y el brazo 24. No obstante, la bandeja es mantenida de forma resiliente en su posición por medio de retenedores 21 formados en la bandeja 22 los cuales cooperan con aberturas 14 en el cuerpo 12.

- 50 Una vez que la muestra ha sido recogida, el miembro de recogida 20 es sacado del cuerpo 12 según se muestra en la figura 2a, hasta que la bandeja hace contacto más allá con miembros de tope. Más detalles se muestran en las figuras 2b, 2c y 2d. Es esa posición, el medio 30 queda expuesto.

El brazo 24 es plegado entonces hacia el medio 30 según se ilustra en las figuras 3a, 3b, 3c y 3d. En esta posición, la almohadilla 28 puede tocar ligeramente el medio 30 para transferir algo de material de muestra biológico al medio

pero esto no es seguro. Se apreciará que el brazo 24 incluye una ranura pasante 23, la función de la cual se describe con más detalle más abajo.

El usuario empuja entonces el miembro de recogida 30 de vuelta al interior del cuerpo 12 manteniendo el brazo plegado, según se muestra en la figura 4a. El usuario sentirá resistencia cuando los retenedores 14 hagan contacto con el borde del cuerpo 12. En este punto, una rampa 16 del cuerpo 12 fuerza la vuelta del brazo 24, adyacente a la almohadilla 28, hacia el medio 28 para proporcionar una fuerza de contacto repetible y constante y, con ello, se obtiene una transferencia controlada de material biológico sobre el medio 30.

El usuario se detiene con el dispositivo 10 en esta posición durante un período de tiempo predeterminado. Se ha encontrado que la fuerza es un predictor más exacto de la transferencia de material más bien que el tiempo, por ello el tiempo de pausa no es crítico pero 5 a 15 segundos han probado ser satisfactorios, más preferiblemente, 10 segundos.

El usuario, entonces, mete la bandeja 22 completamente dentro del cuerpo 12 empujando hasta que la almohadilla se eleva para despegarse del medio 30. La elevación ocurre cuando la ranura pasante 23 coincide con la rampa 16 así la ranura pasante circunda la rampa 16. Esta posición se muestra en las figuras 5a, 5b, 5c y 5d. En esta posición, los elementos complementarios 14 y 21 vienen de nuevo a alineamiento. El usuario puede o bien extraer el medio 30 según se muestra en las figuras 6a, 6b y 6c, para su almacenamiento o transporte a un laboratorio para su almacenamiento o procesado posterior, o bien puede hacer lo mismo con el dispositivo entero que contiene aún el medio 30.

Puesto que el medio puede contener al menos un reactivo estabilizante, la muestra, entonces, estará preservada para su transporte o almacenamiento. Reactivos adecuados de este tipo incluyen o la combinación de una base débil, un agente quelante y, opcionalmente, ácido úrico o una sal urato o simplemente la adición de una sal caotrópica, sola o en combinación con un tensoactivo. La "base débil" del compuesto puede ser una base Lewis la cual tiene un pH de alrededor de 6 a 10, preferiblemente alrededor de 8 a 9,5. Una función de la base débil es actuar como un tampón para mantener un pH del compuesto de alrededor de 6 a 10, preferiblemente alrededor de 8,0 a 9,5, por ejemplo, pH 8,6. Por consiguiente, una base débil adecuada para el compuesto de la invención puede, en conjunto con otros componentes del compuesto, proporcionar un pH del compuesto de 6 a 10, preferiblemente alrededor de pH 8,0 a 9,5. Bases débiles adecuadas de acuerdo con la invención incluyen bases orgánicas e inorgánicas. Bases débiles inorgánicas adecuadas incluyen, por ejemplo, un carbonato, bicarbonato fosfato o borato de metal alcalino (por ejemplo, carbonato sódico, de litio o potásico). Bases débiles orgánicas adecuadas incluyen, por ejemplo, tris(hidroximetil) aminometano (Tris), etanolamina, trietanolamina y glicina y sales alcalinas de ácidos orgánicos (por ejemplo, citrato trisódico). Una base débil orgánica preferida es una base orgánica monovalente débil, por ejemplo, Tris. La Tris puede ser o bien una base libre o una sal, por ejemplo, una sal carbonato.

Un agente quelante preferido es un agente quelante fuerte. Por agente quelante "fuerte" se quiere decir que el agente enlaza iones metálicos multivalentes con una afinidad comparable o mejor que la del ácido etileno diamino tetraacético (EDTA). Un agente quelante preferido de acuerdo con la invención es EDTA.

Tensoactivos aniónicos son ejemplos de surfactantes que son útiles en la presente invención. Un detergente aniónico preferido es un detergente aniónico fuerte. Según se usa en esta memoria, un detergente aniónico "fuerte" incluye una fracción hidrocarburo, alifático o aromático, que contiene uno o más grupos aniónicos. Detergentes aniónicos particularmente preferidos adecuados para la invención incluyen dodecil sulfato sódico (SDS) y lauril sarcosinato sódico (SLS). En una realización preferida, el detergente aniónico causa la inactivación de la mayoría de los microorganismos que tienen proteínas o lípidos en sus membranas externas o cápsidas, por ejemplo, hongos, bacterias o virus. Esto incluye microorganismos los cuales pueden ser patógenos para los humanos y están presentes en una muestra biológica.

También preferiblemente, el medio de almacenamiento tendrá una localización visual (32 en la figura 6a) colocada alrededor del área de transferencia del medio de almacenamiento de tal forma que si es extraído de la bandeja 22, un usuario sabrá dónde fue depositado el material sin referencia al dispositivo.

El presente dispositivo 10 puede usarse para recoger muestras tales como analitos obtenidos biológicamente degradables tales como ácidos nucleicos, proteínas y fragmentos de los mismos. La muestra biológica puede ser seleccionada del grupo que consta de saliva, sangre, suero, fluidos linfáticos, células bucales, células de mucosa, fluido cerebroespinal, semen, fluido vaginal, heces, plasma, orina, una suspensión de células o una suspensión de células y virus.

Preferiblemente, el presente dispositivo está dimensionado y configurado de tal manera que la bandeja 22 sujeta de forma liberable el medio de almacenamiento 30 mediante medios de sujeción 23 en forma de pestañas resilientes. Así, se puede separar el medio 30 del resto del dispositivo 10 para su procesado o almacenamiento subsiguiente. La tensión sobre las pestañas 23 permite la extracción manual o automatizada, pero no permite la pérdida accidental del medio 30.

Si se usa en la recogida de células bucales, la almohadilla 28 debe estar dimensionada y configurada para caber en

el interior de la boca humana. Para mantenimiento de registro y trazabilidad, el presente dispositivo también debería comprender una etiqueta de identificación (tal como una codificación de barras convencional) no sólo sobre el medio 30, sino también el cuerpo 12. Pueden emplearse para este propósito etiquetas RFDI.

5 Para asegurar la integridad del dispositivo, el presente dispositivo puede comprender, también, un envoltorio estéril que rodea los otros elementos del dispositivo. Preferiblemente, aquellos otros elementos son estériles y están libres de cualesquiera analitos de muestras biológicas (hechos, por ejemplo, de plásticos de grado médico), lo cual puede hacerse a través de técnicas convencionales tal como irradiación después de que el envoltorio ha sido sellado.

10 Se pueden fabricar kits que incorporen el dispositivo de arriba junto con cualquier combinación de equipamiento o reactivos asociados incluyendo reactivos de purificación, tampones o similares y sistemas de almacenamiento, recipientes o similares. A este respecto, la presente invención proporciona, además, un kit que comprende un dispositivo como el definido en esta memoria y uno o más componentes seleccionados del grupo que consta de reactivos de purificación para análisis subsiguiente de la muestra, tampones, sistemas de almacenamiento y recipientes.

Ejemplo de uso del dispositivo:

15 El presente dispositivo puede usarse para recogida de muestras biológicas para los siguientes propósitos: la recogida de muestras de células bucales para bases de datos de criminales; la recogida de muestras en escenas de crímenes (es decir, sangre rehidratada, semen, saliva y muestras líquidas de los mismos); la recogida de muestras de agresiones sexuales; la recogida de muestras bucales para estudios genéticos o farmacogenómicos de la población; la recogida de muestras bucales para archivar el ideograma genético personal; la recogida de muestras de bacterias o parásitos de fuentes alimentarias; la recogida de sangre de carne en matadero para trazabilidad de la carne; o la recogida de muestras biológicas de animales para diagnósticos veterinarios.

20 Aunque sólo se ha ilustrado una realización, estará claro para los expertos destinatarios que son posibles modificaciones, variantes, adiciones u omisiones dentro del alcance y espíritu de la invención definida en esta memoria.

25 Por ejemplo, se ha descrito e ilustrado una rampa 16, pero podría usarse cualquier proyección en forma de rampa, es decir, una proyección la cual forme un ángulo agudo entre la dirección de deslizamiento del miembro de recogida 20 y la superficie de la rampa o proyección. El ángulo agudo es preferiblemente de unos 30° según se ilustra mediante el ángulo x en la figura 3c. La rampa se ha mostrado sobre el cuerpo 12 pero una disposición igualmente efectiva sería montar la rampa sobre el brazo 24 y tener una superficie de reacción sobre el cuerpo. Deslizar el brazo más allá de la superficie de reacción podría liberar el brazo de la posición de transferencia de la misma manera que la ranura 23 libera el brazo. "Deslizar" y términos similares quieren decir movimiento lineal o sustancialmente lineal.

30 Plástico moldeado es el material preferido para el cuerpo 12 y el miembro de recogida 20 pero podrían emplearse otros materiales, por ejemplo metales, por ejemplo, aleación de aluminio moldeado a presión.

35

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo (10) de recogida de material de muestra biológico con transferencia controlada, que comprende: un cuerpo (12); un miembro de recogida de muestras (20) para recoger el material de muestra biológico, alojando el cuerpo un medio de almacenamiento (30) de la muestra, siendo el miembro de recogida móvil desde una posición expuesta en la que es posible la recogida de una muestra biológica, hasta una posición de transferencia en la cual se efectúa la transferencia de al menos una porción de la muestra recogida hasta dicho medio, en donde el cuerpo soporta de manera deslizante el miembro de recogida de muestras y en donde el cuerpo o el miembro de recogida incluye una proyección en forma de rampa (16) operable para forzar al miembro de recogida hasta la posición de transferencia contra el medio y para efectuar dicha transferencia cuando el miembro de recogida desliza en el interior del cuerpo, en el que dicho medio de almacenamiento de la muestra proporciona almacenamiento en seco del material biológico y el miembro de recogida incluye una porción (22) deslizante en el interior de la envoltura, cuya porción deslizante porta el medio de almacenamiento.
2. Un dispositivo como el reivindicado en la reivindicación 1, en el que el miembro de recogida incluye, además, un brazo (24) acharnelado a la porción deslizante, cuyo brazo porta una almohadilla resiliente (28) para la recogida de la muestra, en donde la porción deslizante y el brazo son plegables juntos para proporcionar una posición plegada juntos, para deslizar en el interior del cuerpo para efectuar la transferencia bajo la influencia de la rampa.
3. Un dispositivo como el reivindicado en la reivindicación 2, en el que la rampa está formada en el cuerpo y el brazo incluye una ranura (23), cuya ranura acepta la rampa para separar de este modo el medio y la almohadilla a continuación de la transferencia.
4. Un dispositivo como el reivindicado en la reivindicación 2 o 3, en el que la porción deslizante y el medio se pueden situar en el interior del cuerpo para ser sustancialmente encerrados por el cuerpo y, cuando están en esa posición, el brazo es capaz de adoptar dicha posición expuesta, y la porción deslizante y el medio se pueden situar más lejos para estar sólo parcialmente en el interior del cuerpo pero siendo capaces de adoptar dicha posición plegada juntos con el brazo, para la inserción conjunta en el interior del cuerpo y para efectuar dicha transferencia.
5. Un dispositivo como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la extensión del movimiento de la porción deslizante está limitada mediante elementos de tope complementarios sobre el cuerpo y sobre la porción deslizante.
6. Un dispositivo como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el medio es extraíble de la porción deslizante.
7. Un método para recogida de material de muestra biológico con transferencia controlada, incluyendo el método los pasos de:
- i) proveer un dispositivo (10) que comprende: un cuerpo (12); un miembro de recogida de muestras (20) para recoger el material de muestra biológico, alojando el cuerpo un medio de almacenamiento (30) de la muestra, para almacenamiento generalmente en seco del material biológico, siendo portado el medio de almacenamiento por una porción (22) del miembro de recogida de la muestra que desliza en la envoltura;
 - ii) exponer el miembro de recogida y recoger una muestra biológica sobre el miembro de recogida;
 - iii) mover el miembro de recogida desde una posición expuesta en la que es posible la recogida de una muestra biológica, hasta una posición de transferencia en la cual se efectúa la transferencia de al menos una porción de la muestra recogida hasta dicho medio;
 - iv) proveer una proyección en forma de rampa en el cuerpo o en el miembro de recogida y deslizar el miembro de recogida con respecto al cuerpo hasta dicha posición de transferencia, con lo cual la rampa fuerza al miembro de recogida contra el medio.

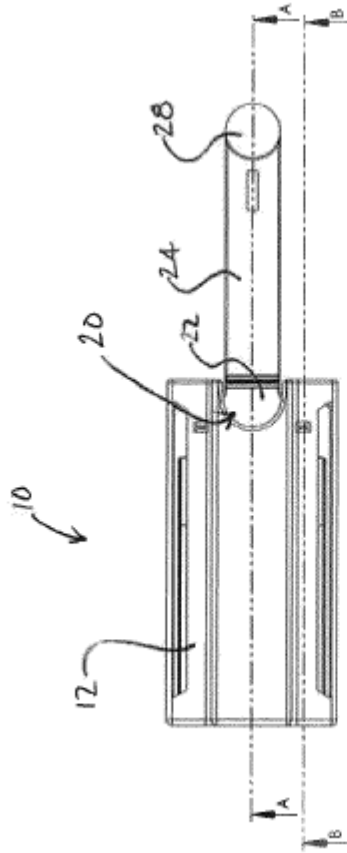
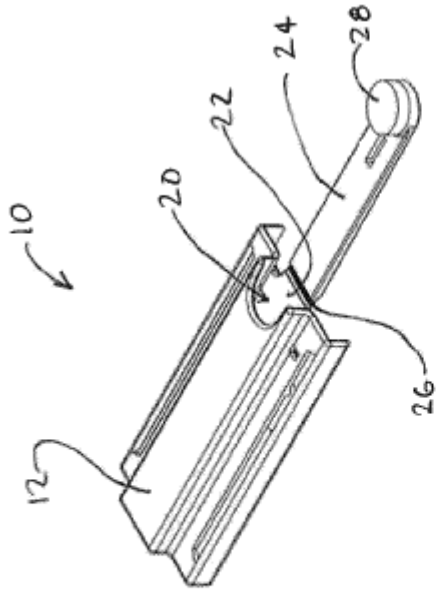


Fig 1b

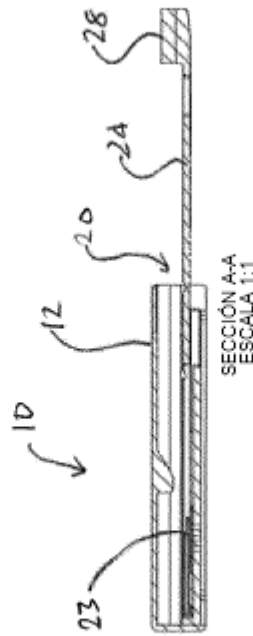


Fig 1c

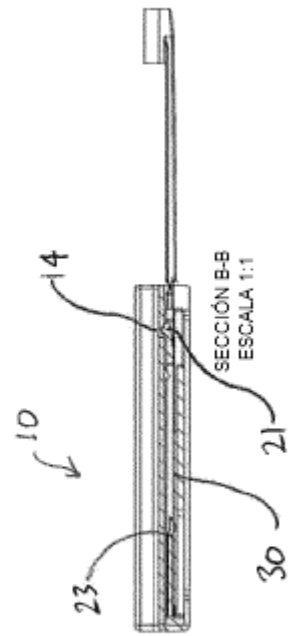
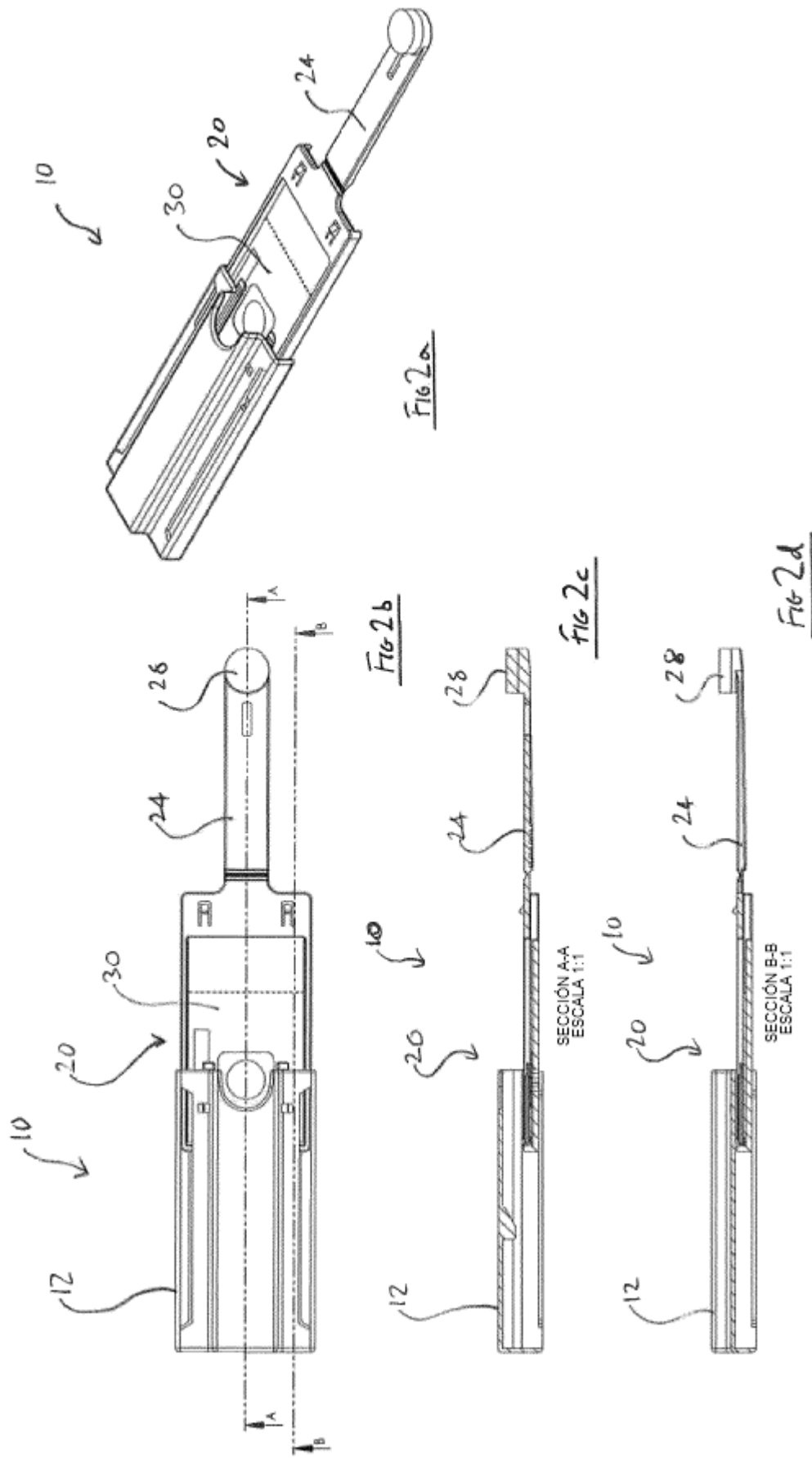


Fig 1d



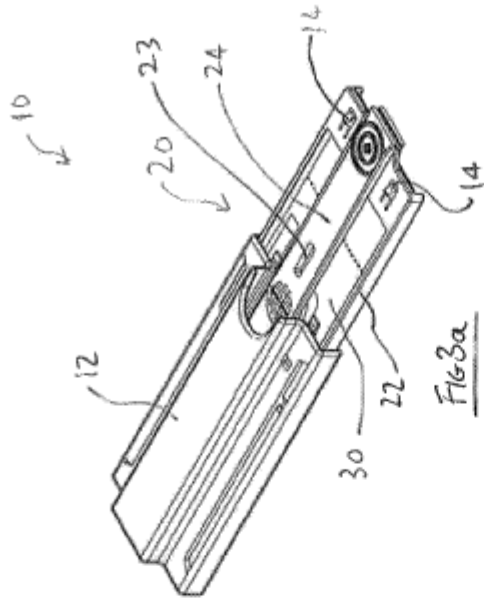


Fig 3a

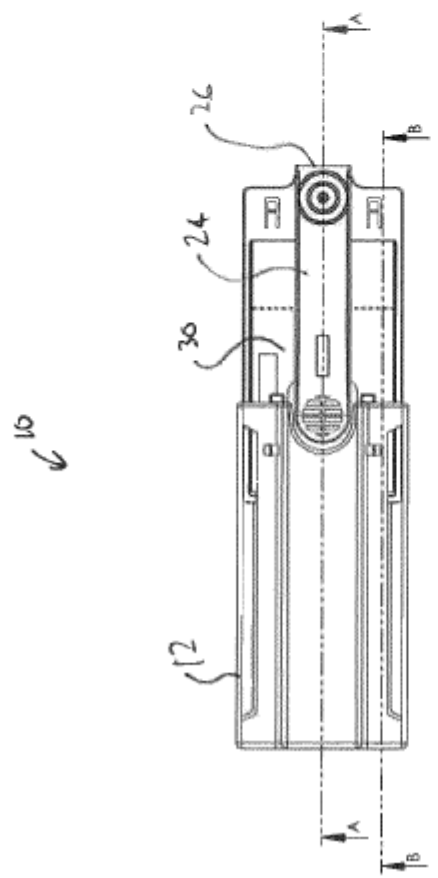


Fig 3b

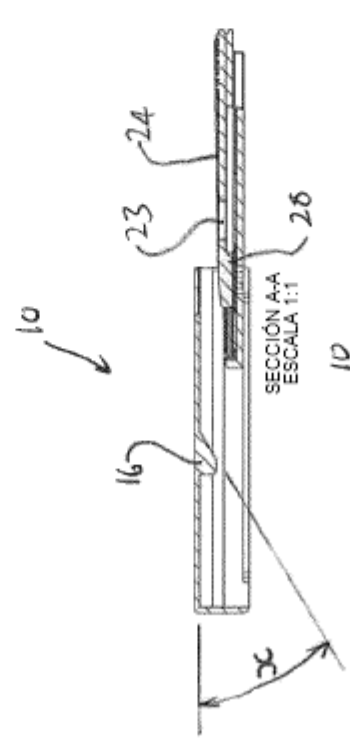


Fig 3c

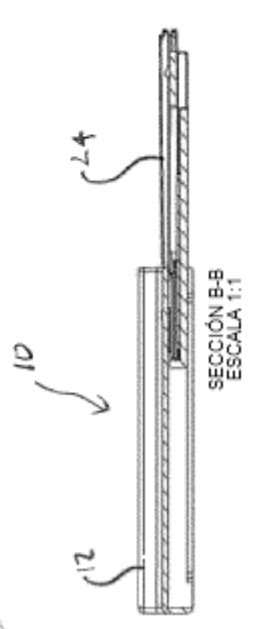


Fig 3d

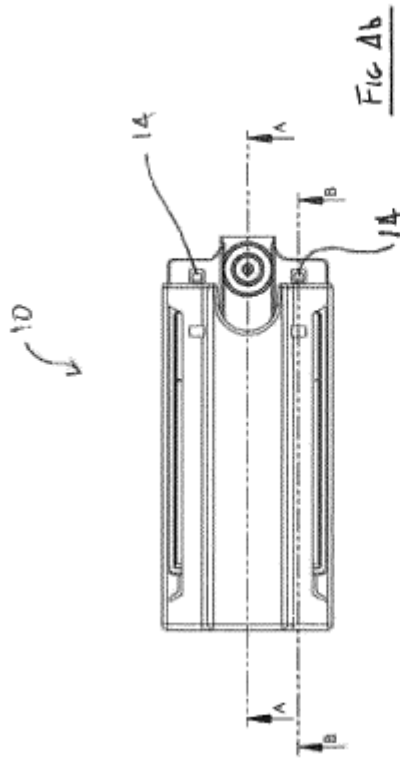
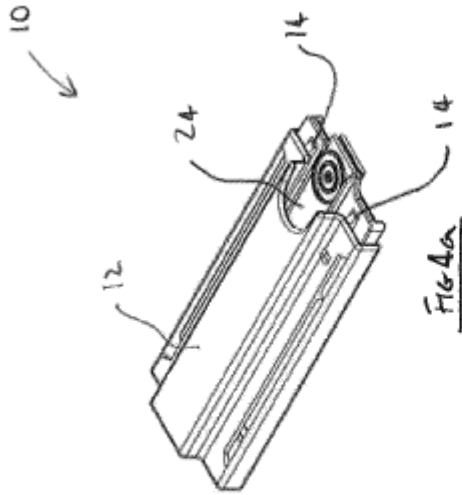


Fig 4b

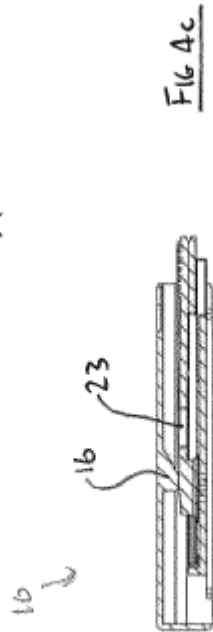


Fig 4c

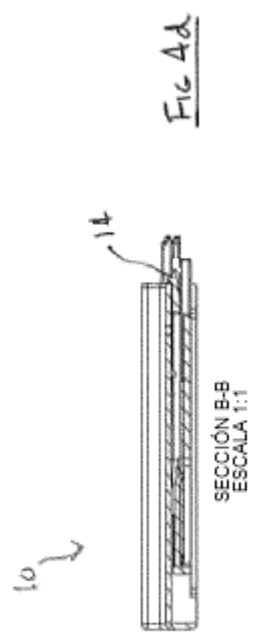


Fig 4d

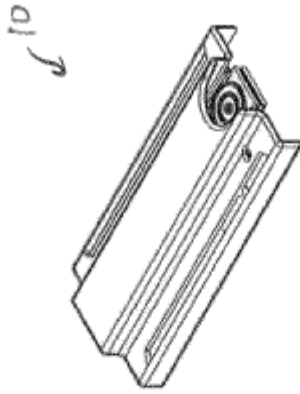


Fig 5a

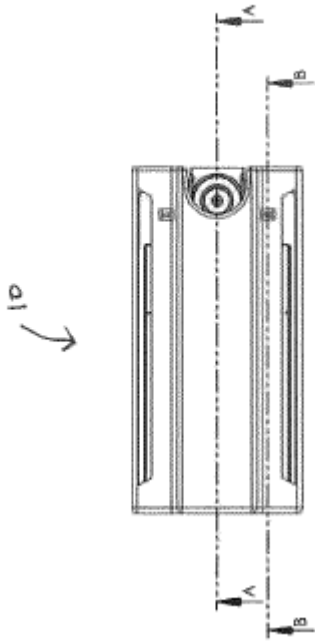


Fig 5b

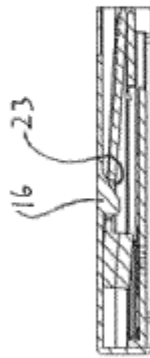


Fig 5c

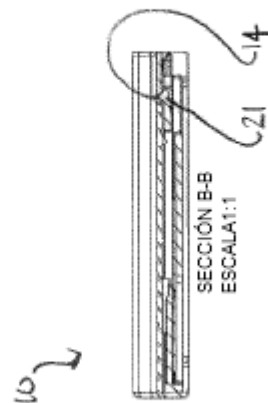


Fig 5d

