

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 672 268**

51 Int. Cl.:

G01N 35/00 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2013 PCT/US2013/020483**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.07.2013 WO13106269**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2013 E 13736046 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.03.2018 EP 2802869**

54 Título: **Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis**

30 Prioridad:

10.01.2012 US 201261585050 P

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

13.06.2018

73 Titular/es:

IDEXX LABORATORIES, INC. (100.0%)

One Idexx Drive

Westbrook, ME 04092, US

72 Inventor/es:

CHAN, EUGENE y

NASSIF, KEITH

74 Agente/Representante:

MANRESA VAL, Manuel

ES 2 672 268 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

Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

5 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a dispositivos destinados a realizar ensayos para determinar la presencia o la cantidad de un analito específico de interés en una muestra de fluido.

Descripción de la técnica anterior

15 Muchos dispositivos para la detección y/o la cuantificación de un analito de interés en una muestra de fluido resultan muy conocidos y son del tipo de fluencia lateral o del tipo de micropozo. Generalmente, los dispositivos de fluencia lateral comprenden una vía de circulación permeable a los fluidos en fase sólida a través del que circulan una muestra y diversos reactivos por acción capilar. La vía de circulación presenta inmovilizados en la misma diversos reactivos aglutinantes del analito (o análogo del mismo), otras moléculas de enlace, o conjugados que implican moléculas de enlace del analito y elementos de sistemas que producen señales (por ejemplo, una etiqueta). Los diversos formatos de ensayo utilizados con dichos dispositivos son muy conocidos en la detección directa o indirecta del analito de interés en la muestra para ensayo.

20 Las patentes US n.º 5.726.010, 5.726.013, 5.750.333 y 7.816.122, cada una de las mismas a nombre de Scott M. Clark y que se encuentran cedidas a IDEXX Laboratories, Inc., describen procedimiento y dispositivos de ensayo que utilizan la formación de un complejo terciario unido a la fase sólida destinado a detectar un analito de interés en una muestra de fluido. Los dispositivos que se dan a conocer en las patentes de Clark utilizan un flujo reversible en una prueba de unión cromatográfica. Se aplica al dispositivo una disolución que contiene analito y se transporta a continuación por acción capilar, en primer lugar, en una dirección y luego en la dirección opuesta, a lo largo de una matriz de flujo alargada. La matriz de flujo comprende generalmente cuatro regiones distintas. 30 La primera región es donde se añade una disolución que presenta la muestra mezclada con un anticuerpo o antígeno marcado. La segunda región, denominada asimismo zona de detección, comprende el segundo anticuerpo o antígeno, que se encuentra inmovilizado en una fase sólida. La tercera región comprende una zona destinada a aplicar una disolución de lavado. La cuarta región comprende un depósito absorbente dispuesto en la proximidad de la región uno y provoca que el flujo se desplace en la dirección opuesta. El dispositivo 35 comprende asimismo unos medios destinados a detectar la presencia o la cantidad de un analito.

El dispositivo de fluencia lateral reversible que se da a conocer en las patentes de Clark funciona bastante bien para detectar un analito en una muestra de fluido. Sin embargo, del mismo modo que otros dispositivos de fluencia lateral, requiere un volumen de muestra relativamente significativo y otros reactivos para que la matriz se pueda humedecer suficientemente a fin de permitir la fluencia lateral del líquido de muestra, el lavado y el sustrato. Con mayor exactitud, dichos dispositivos de fluencia lateral pueden requerir aproximadamente 0,35 40 gramos (0,35 mililitros) del líquido de muestra. De este modo, a menudo resulta necesario diluir las muestras cuando los volúmenes de muestra son pequeños.

45 Los portaobjetos para pruebas con reactivo químico seco que presentan una película rodeada por un marco son asimismo muy conocidos en la técnica y se utilizan para analizar una muestra de sangre o fluido depositada en los mismos en un analizador químico, tal como se da a conocer en la patente US n.º 5.089.229 (Heidt, et al.) y la publicación de solicitud de patente US n.º 2010/0254854 (Rich, et al.). La muestra depositada sobre los portaobjetos reacciona con el reactivo químico de la película y el analizador químico mide la reflectancia o fluorescencia de los portaobjetos para detectar un compuesto o sustancia que se encuentra en la muestra, tal como calcio (Ca), aspartato transaminasa (AST) o glucosa (Glu), que podría ser indicativo de un trastorno o enfermedad. Únicamente se deben depositar pequeñas cantidades iguales de fluido de muestra en los portaobjetos en el caso de la detección de ciertos indicadores de enfermedades. Resultaría ventajoso si se pudieran realizar inmunoanálisis en dichos instrumentos analíticos de química seca utilizando portaobjetos para 50 pruebas. WO99/23475 da a conocer un dispositivo para pruebas de diagnóstico que comprende un elemento fluoróforo con una pluralidad de proyecciones y un elemento reactivo.

OBJETIVOS Y SUMARIO DE LA INVENCION

60 Constituye un objetivo de la presente invención proporcionar un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis realizado según la presente invención que se pueda utilizar en un instrumento analítico de química seca. El portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis de la presente invención que se define en su sentido más amplio según las reivindicaciones adjuntas comprende un alojamiento (4), definiendo el alojamiento (4) una cavidad (10); y una matriz de soporte porosa (12), disponiéndose la matriz de soporte porosa (12) en la cavidad (10) del alojamiento (4) para alojar una muestra de fluido que comprende un analito, o uno o más reactivos líquidos; en el 65

que el alojamiento (4) comprende un lado inferior que se realiza de un material transmisor de luz, un lado superior (74), comprendiendo el lado superior (74) una entalladura (72) para definir por lo menos parcialmente la cavidad (10) destinada a alojar la matriz de soporte porosa (12), un lado frontal (44), un lado posterior (46) opuesto al lado frontal (44), y unos lados laterales opuestos (48), encontrándose la cavidad (10) dispuesta entre los lados frontal y posterior (44, 46) y entre los lados laterales opuestos (48) del alojamiento (4); y en el que el portaobjetos para pruebas (2) comprende además: una parte de película superior (70), disponiéndose la parte de película superior (70) en el alojamiento (4) opuesto al lado inferior, y alineada y cubriendo la matriz de soporte porosa (12), presentando la parte de película superior (70) una abertura (88) realizada a través del espesor de la misma que está comunicada con la cavidad (10) del alojamiento (4) y que está destinada a alojar la muestra de fluido que comprende un analito o uno o más reactivos líquidos, estando la matriz de soporte porosa (12) dispuesta dentro del alojamiento (4) y alineada con la abertura superior (88) realizada en la parte de película (70) para recibir en la misma la muestra de fluido o el uno o más reactivos líquidos; y en el que el lado superior (74) del alojamiento (4) comprende por lo menos un reborde entallado (80), encontrándose el por lo menos un reborde entallado (80) adyacente a la parte entallada (72) que aloja la matriz de soporte porosa (12), presentando el por lo menos un reborde entallado (80) una superficie superior sobre la que descansa una parte de la superficie inferior de la parte de película superior (70). En la presente memoria se describe un procedimiento para realizar dicho portaobjetos para inmunoanálisis. En la presente memoria se describe un procedimiento para realizar pruebas en un instrumento analítico de química seca utilizando el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis de la presente invención. Un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis para utilizar en un instrumento analítico de química seca y para realizar pruebas para detectar la presencia o la cantidad de un analito (por ejemplo, un antígeno o un anticuerpo, y similares), comprende un alojamiento o caja para el portaobjetos realizado a partir de dos secciones acoplables - una pieza de cubierta del portaobjetos sustancialmente plana y una pieza inferior del portaobjetos sustancialmente plana que se puede unir a la pieza de cubierta. El alojamiento del portaobjetos realizado a partir de la pieza de cubierta y la pieza inferior, cuando se unen entre sí, es sustancialmente estanco durante su utilización y define una cavidad interior. Se dispone una matriz de soporte porosa similar a una lámina dentro de los límites de la cavidad del alojamiento.

La pieza de cubierta del portaobjetos presenta una abertura realizada a través del espesor de la misma para exponer una parte central de la matriz de flujo de fluido. Se proporciona la abertura en la pieza de cubierta para exponer una parte central de la matriz de soporte porosa de tal modo que se pueda depositar un volumen preciso de muestra de fluido (por ejemplo, sangre, suero y similares), preferentemente mezclados previamente con un reactivo conjugado, tal como se describirá posteriormente, un reactivo de lavado y un sustrato (reactivo detector) en la matriz a través de la abertura de la cubierta mediante un dispositivo dosificador del instrumento analítico. La parte central de la matriz de soporte presenta depositado en la misma un reactivo de unión específico seco e inmovilizado, dispuesto alineado con la abertura central de la pieza de cubierta.

La pieza inferior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis comprende asimismo una abertura central realizada a través del espesor de la misma, pudiendo cubrirse dicha abertura con una lámina fina de material transparente (claro), tal como Mylar, para evitar la contaminación y mantener la estanqueidad del alojamiento. Se dispone la abertura de la pieza inferior de modo que se puedan realizar mediciones de la reflectancia o la fluorescencia del portaobjetos para inmunoanálisis cuando se transporta mediante el instrumento analítico sobre un reflectómetro o fluorómetro que forma parte del instrumento analítico. Alternativamente, la pieza inferior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis se puede realizar de un material transparente, en lugar de presentar la abertura realizada en la pieza inferior, para realizar dichas mediciones en el portaobjetos.

La forma general del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis es preferentemente rectangular o cuadrada, similar a los portaobjetos para pruebas con reactivos químicos que se dan a conocer en el documento mencionado anteriormente de Heidt *et al.* patente '229 (patente US n.º 5.089.229), o trapezoidal, similar a los portaobjetos para pruebas con reactivos químicos que se dan a conocer en la solicitud publicada mencionada anteriormente de Rich, *et al.*, (publicación n.º 2010/0254854). El espesor del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis es preferentemente el mismo o ligeramente superior al de los portaobjetos de química seca convencionales, de tal modo que se pueden utilizar con instrumentos analíticos de química seca existentes que acepten dichos portaobjetos de química seca, tal como se da a conocer en la patente de Heidt, *et al.* y la solicitud publicada de Rich, *et al.* mencionadas anteriormente.

Según un procedimiento de utilización del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis en un instrumento analítico de química seca para realizar una prueba, el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis se carga en un mecanismo de transporte del instrumento analítico, que dispone el portaobjetos debajo de un dispositivo dosificador de muestra y sobre un reflectómetro o fluorómetro. Se carga asimismo en el instrumento analítico una parte alícuota de muestra de fluido contenida en un vial. La muestra de fluido se puede haber mezclado previamente con un reactivo conjugado antes de cargarse en el instrumento analítico, o mezclarse con el reactivo conjugado mediante el instrumento. En función del formato de la prueba, el reactivo conjugado se puede unir específicamente a un analito de la muestra de fluido para formar un complejo entre el analito y el reactivo conjugado. En otro aspecto, el reactivo conjugado comprende un análogo de analito, que no se forma complejo

alguno con el analito. La mezcla de reactivo/conjugado con la muestra se incuba a continuación durante un período de tiempo predeterminado.

A continuación, se dosifica un volumen predeterminado de muestra/conjugado sobre el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis a través de la abertura realizada en la pieza de cubierta mediante el dispositivo dosificador del instrumento analítico. El líquido de muestra que comprende el analito y el reactivo conjugado ya sea formando complejo o no, circula hacia la parte central de la matriz ubicada en la abertura superior de la pieza de cubierta y se transporta por acción capilar en todas las direcciones dentro de la matriz. Tras ello, se realiza una serie de lavados del portaobjetos para pruebas de tal modo que el dispositivo dosificador del instrumento analítico deposita unos volúmenes predeterminados de un reactivo de lavado sobre el portaobjetos a través de la abertura superior de la pieza de cubierta. Por último, se añade un volumen predeterminado de un sustrato, tal como un reactivo detector, al portaobjetos a través de la abertura superior mediante el dispositivo dosificador del instrumento analítico.

A continuación, se toman medidas de la reflectancia o la fluorescencia del portaobjetos a través de la pieza inferior transparente o de la abertura inferior del portaobjetos a una longitud de onda particular. Mediante dichas mediciones se puede determinar la presencia o la cantidad de un analito específico de interés en la muestra de fluido. Preferentemente, se produce una reacción de color que se puede detectar en el portaobjetos y que se mide con el instrumento analítico que se utiliza en la detección y cuantificación del analito de la muestra de fluido.

Se puede realizar el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis disponiendo una sección cortada a troquel de la matriz de soporte porosa a partir de una lámina del mismo material entre una pieza de cubierta y una pieza inferior de un material plástico, tal como poliestireno, conformado específicamente para que se pueda acoplar. Las dos piezas se pueden unir entre sí aplicando calor o un adhesivo para definir un alojamiento sustancialmente estanco en el que se dispone la matriz de soporte porosa. La matriz de soporte porosa se puede marcar con un reactivo de unión específico inmovilizado antes de su inserción entre las dos piezas del portaobjetos, coincidentes, o se puede detectar con el reactivo de unión específico, y calentado a una temperatura específica y durante un período de tiempo predeterminado para secar e inmovilizar el reactivo de unión en la parte central de la matriz debajo de la abertura de la pieza de cubierta. Si se proporciona una abertura inferior, realizada en la pieza inferior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis, antes de la inserción de la matriz de soporte porosa entre la pieza de cubierta y la pieza inferior, se dispone una lámina fina de material transparente (nítido), tal como Mylar, dentro de la cavidad interior definida por el alojamiento del portaobjetos sobre la abertura inferior. Alternativamente, no se requiere dicha abertura inferior o lámina de cubierta si la pieza inferior del portaobjetos está realizada de un material traslúcido o transparente.

Estos y otros objetivos, características y ventajas se pondrán claramente de manifiesto a partir de la siguiente descripción detallada que se debe leer haciendo referencia a los dibujos adjuntos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 es una vista explosionada en perspectiva superior de una forma de realización de un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

La figura 2 es una vista explosionada en alzado lateral del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis de la presente invención representado en la figura 1.

La figura 3 es una vista en planta superior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis de la presente invención representado en la figura 1.

La figura 4 es una vista explosionada en perspectiva superior de una forma de realización adicional del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

La figura 5 es un gráfico de la reflectancia óptica con respecto al tiempo que representa la curva de progreso para un protocolo de pruebas de dos etapas utilizando un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis fPL.

La figura 6 es un gráfico de la reflectancia óptica con respecto a los nanogramos/mililitros que representa la curva de dosificación del calibrador para un protocolo de pruebas de dos etapas utilizando un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis fPL realizado.

La figura 7 es un gráfico de la reflectancia óptica con respecto a los nanogramos/mililitros que representa la curva de dosificación del calibrador para un protocolo de pruebas de una etapa (dispensación de premezcla única) utilizando un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis fPL.

La figura 8 es un gráfico de la reflectancia óptica con respecto a los nanogramos/mililitros que representa la curva de dosificación del calibrador para un protocolo de pruebas de una etapa (dispensación de premezcla múltiple) utilizando un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis fPL.

5 La figura 9 es una vista en perspectiva superior de un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

La figura 10 es una vista en perspectiva inferior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis representado en la figura 9.

10 La figura 11 es una vista explosionada en perspectiva superior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis representado en las figuras 9 y 10.

La figura 12 es una vista explosionada en perspectiva inferior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis representado en las figuras 9 a 11.

15 La figura 12A es una vista en perspectiva superior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis que presenta una forma alternativa a la representada en las figuras 9 a 12.

20 La figura 13 es una vista en planta del lado exterior de una pieza de cubierta de un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

La figura 14 es una vista en planta del lado interior de una pieza de cubierta del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

25 La figura 15 es una vista lateral de la pieza de cubierta del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

La figura 16 es una vista en sección transversal de la pieza de cubierta del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis tomada a lo largo de la línea 16-16 de la figura 14.

30 La figura 17 es una vista en planta del lado exterior de una pieza inferior de un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

La figura 18 es una vista en planta del lado interior de una pieza inferior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

35 La figura 19 es una vista lateral de la pieza inferior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis realizado.

La figura 20 es una vista en sección transversal de la pieza inferior del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis tomada a lo largo de la línea 20-20 de la figura 18.

40 La figura 21A es una ilustración esquemática de un procedimiento para utilizar el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis para detectar un analito en un fluido de muestra.

45 La figura 21B es un gráfico de las mediciones de la reflectancia con respecto al tiempo que ilustra unos ejemplos de resultados de las pruebas realizadas en un portaobjetos para la T4 según el procedimiento representado en la figura 21A.

50 La figura 22 es una vista isométrica frontal de un analizador químico para utilizar tanto con portaobjetos analíticos convencionales de química seca como con el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis según la presente invención.

55 La figura 23 es una vista isométrica frontal del analizador químico representado en la figura 22, que ilustra una primera puerta deslizante de la cara frontal del analizador abierta y un primer mecanismo del analizador químico destinado a introducir el portaobjetos que se extiende más allá de la cara frontal del alojamiento del analizador.

La figura 24 es una vista isométrica frontal del analizador químico, con el alojamiento del mismo parcialmente incompleto, y que ilustra diversos elementos del analizador.

60 La figura 25 es una vista isométrica superior de un reflectómetro utilizado en el analizador químico, con partes del reflectómetro parcialmente incompletas.

La figura 26 es una ilustración gráfica en sección de un fluorómetro utilizado en el analizador químico.

La figura 27 es una vista isométrica frontal de una parte del mecanismo de introducción del portaobjetos utilizado en el analizador químico y que ilustra la disposición de un rotor para centrífuga o un frasco para muestras sobre el mismo.

- 5 La figura 28 es una vista isométrica frontal del analizador químico representado en la figura 22 y que ilustra la extensión desde la cara frontal del alojamiento del analizador de una bandeja para transportar un diluyente y una cubeta mezcladora u otras cubetas para contener reactivos y similares.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA FORMA DE REALIZACIÓN PREFERIDA

Haciendo referencia inicialmente a las figuras 9 a 20 de los dibujos, se podrá observar que un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 comprende un alojamiento o receptáculo sustancialmente estanco 4 constituido por dos secciones - una pieza de cubierta 6 y una pieza inferior 8 que se puede acoplar a la pieza de cubierta 6. El alojamiento o receptáculo 4 definido por la pieza de cubierta 6 y la pieza inferior 8, cuando se unen entre sí, define una cavidad interior 10 en la que se dispone un material absorbente 12, al que se hace referencia asimismo en la presente memoria como matriz de soporte porosa o matriz de flujo de fluido, tal como se describirá posteriormente con mayor detalle.

20 La pieza de cubierta 6 y la pieza inferior 8 del alojamiento 4 se realizan de un material plástico, tal como poliestireno, polipropileno o polietileno. Tanto la pieza de cubierta 6 como la pieza inferior 8 comprenden una superficie interior 14, 18, enfrentada a la cavidad interior 10 del alojamiento 4, y una superficie exterior opuesta 22, 24 que se encuentra expuesta. La pieza inferior 8 comprende uno o más resaltes o nervaduras 28 que se extienden hacia el exterior desde la superficie interior 18 de la pieza inferior, disponiéndose dichas nervaduras 28 ligeramente hacia el interior desde el borde periférico de la pieza inferior 8. Se proporcionan las nervaduras 28 para ayudar a fijar la pieza de cubierta 6 en la pieza inferior 8, es decir, las nervaduras 28 proporcionan el material que puede fluir durante una operación de soldadura.

30 La pieza de cubierta 6 comprende una pared lateral continua 30 que se extiende alrededor de la periferia de la pieza de cubierta. El espesor preferido de la pared lateral 30 de la pieza de cubierta 6 es preferentemente igual a la distancia a la que se disponen las nervaduras 28 de la pieza inferior 8 hacia el interior desde el borde periférico de la misma, de tal modo que cuando la pieza de cubierta 6 se monta en la pieza inferior 8, el borde inferior de la pared lateral 30 de la pieza de cubierta descansa sobre la superficie interior 18 de la pieza inferior 8, con la superficie exterior de la pared lateral 30 al nivel del borde periférico de la pieza inferior 8 y, además, disponiéndose las nervaduras 28 de la pieza inferior en contacto con, o en la proximidad de, la superficie interior de la pared lateral 30 de la pieza de cubierta. Naturalmente, debe tenerse en cuenta que se puede invertir la estructura descrita anteriormente con respecto a la pieza de cubierta 6 y la pieza inferior 8, es decir, con las nervaduras 28 dispuestas en la pieza de cubierta 6 y la pared lateral 30 dispuesta en la pieza inferior 8.

40 La pieza de cubierta 6 y la pieza inferior 8 se unen entre sí con un adhesivo o termosellando las dos piezas entre sí de tal modo que se forme un sellado sustancialmente estanco para el alojamiento 4 del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis. Preferentemente, se pueden unir entre sí partes de la pieza de cubierta 6 y la pieza inferior 8 fundiendo dichas partes, por ejemplo, mediante soldadura sónica o estampado en caliente, lo que permite que dichas partes se endurezcan y fusionen entre sí.

45 Para obtener una mayor resistencia y para facilitar aún más el posicionamiento de la pieza de cubierta 6 con respecto a la pieza inferior 8 cuando las dos piezas se encuentran unidas entre sí, la pieza de cubierta 6 puede comprender uno o más (preferentemente cuatro) postes 32 que se extienden perpendicularmente hacia el exterior desde la superficie interior 14 de la pieza de cubierta 6 una distancia predeterminada en la cavidad interior 10. Además, la pieza inferior 8 puede comprender una o más (preferentemente cuatro) columnas o soportes 34 que se extienden perpendicularmente hacia el exterior desde la superficie interior 18 de la pieza inferior 8 a una distancia predeterminada dentro de la cavidad interior 10. Cada columna o soporte 34 de la pieza inferior comprende un orificio cilíndrico 36 realizado por lo menos parcialmente axialmente en la misma, que se dimensiona para alojar un poste correspondiente 32 de la pieza de cubierta 6. Las columnas o soportes 34 de la pieza inferior 8 se disponen alineadas con los postes 32 de la pieza de cubierta 6 de tal modo que, cuando la pieza de cubierta 6 se acopla con la pieza inferior 8, se alojan los postes 32 de la pieza de cubierta en los orificios cilíndricos 36 de los soportes o columnas 34 de la pieza inferior, con los extremos libres de los postes 32 preferentemente descansando sobre la superficie interior 18 de la pieza inferior 8 dentro de sus columnas o soportes correspondientes 34. Los postes 32 y columnas 34 respectivamente de la pieza de cubierta 6 y la pieza inferior 8 añaden resistencia y rigidez adicionales al portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2, especialmente en la parte interior del mismo, y ayudan a mantener el espesor total del alojamiento 4 del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 hasta una dimensión pretendida. Por supuesto, debe tenerse en cuenta que se puede invertir el posicionamiento de los postes 32 y las columnas 34, es decir, con los postes 32 extendiéndose hacia el exterior desde la superficie interior 18 de la pieza inferior 8, y las columnas 34 extendiéndose hacia el exterior desde la superficie interior 14 de la pieza de cubierta 6. La pieza de cubierta 6 del

5 portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 presenta una abertura 38 realizada a través del espesor de la misma que puede presentar una forma circular, rectangular o, tal como se representa en los dibujos, ovalada. Se proporciona dicha abertura superior 38 para poder dosificar una cantidad precisa de un fluido de muestra, tal como sangre, suero y similares, y reactivos en el portaobjetos para pruebas 2 y depositarla sobre el material absorbente 12 (la matriz de soporte porosa o matriz de flujo de fluido) dispuesto debajo de la abertura 38, mediante un dispositivo dosificador de muestras del instrumento analítico de química seca, tal como se da a conocer en los documentos mencionados anteriormente de Heidt, *et al.* patente '229 y la solicitud publicada de Rich, *et al.*, tal como se describirá posteriormente con mayor detalle. Además, la pieza inferior 8 puede presentar una abertura 40 realizada a través del espesor de la misma, disponiéndose dicha abertura inferior 40 alineada con la abertura superior 38 de la pieza de cubierta 6 cuando las dos piezas se acoplan entre sí. Se proporciona la abertura inferior 40 para que la luz emitida por un reflectómetro o fluorómetro del instrumento analítico pueda pasar a través de la misma e incidir la matriz de flujo de fluido 12 dentro del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2, y reflejarse o fluorecer, siendo la luz reflejada o fluorescente detectada por el reflectómetro o fluorómetro durante las mediciones realizadas en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis cuando se desplaza sobre el reflectómetro o fluorómetro mediante un mecanismo de transporte del instrumento analítico. La abertura inferior 40, al igual que la abertura superior 38, puede ser de forma rectangular, ovalada o, tal como se representa en los dibujos, circular.

20 Tanto la abertura superior 38 de la pieza de cubierta 6 como la abertura inferior 40 de la pieza inferior 8 se disponen sustancialmente centralmente en cada pieza respectiva y alineadas entre sí y, además, están situadas sustancialmente entre las cuatro columnas 32 y columnas 34.

25 Si se proporciona una abertura inferior 40, se puede disponer una lámina fina de material transparente 42 (traslúcido), tal como Mylar, sobre la abertura inferior y unirse con adhesivo o termosellarse a la superficie interior 18 la pieza inferior 8 dentro de la cavidad interior 10 del alojamiento, es decir, interpuesta entre la superficie interior 18 de la pieza inferior y el material poroso absorbente 12, para garantizar la estanqueidad del alojamiento 4. Alternativamente, la pieza inferior 8 se puede realizar a partir de un material transparente o traslúcido (transmisor de la luz) (vidrio o plástico, por ejemplo), y se puede omitir la abertura inferior. Más específicamente, con respecto a dicha forma de realización alternativa, el material con el que se realiza la pieza inferior 8 se elige para permitir que la luz visible o infrarroja o, más preferentemente, la luz con una longitud de onda de aproximadamente 645 nanómetros, la atraviese. La luz emitida por el reflectómetro o fluorómetro del instrumento analítico pasará a través de la cubierta transparente de Mylar 42 o la pieza inferior transparente 8 para incidir en el material absorbente 12 cuando el instrumento analítico esté realizando mediciones de la reflectancia o la fluorescencia en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2.

35 El alojamiento 4 del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis definido por la pieza de cubierta 6 y la pieza inferior 8, cuando se unen entre sí, presenta preferentemente una forma rectangular general como la de los portaobjetos para pruebas de reactivos de química seca convencionales que se dan a conocer en el documento mencionado anteriormente de Heidt *et al.* patente '229, o trapezoidal general como los portaobjetos para pruebas con reactivos químicos que se dan a conocer en la solicitud publicada mencionada anteriormente de Rich, *et al.* De este modo, el alojamiento 4 comprende una pared frontal 44, una pared posterior 46 dispuesta enfrentada a la pared frontal, y dos paredes laterales opuestas 48, definiéndose cada una de las mismas por lo menos en parte por la pared lateral 30 de la pieza de cubierta 6. Si el alojamiento 4 del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis adopta una forma rectangular, cada pared 44 a 48 se encuentra unida perpendicularmente a su pared adyacente siguiente, tal como se representa en la figura 12A. Si el alojamiento del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis presenta una forma trapezoidal, tal como se representa en las figuras 9 a 12 y 12A a 20, las paredes frontal y posterior 44, 46 son generalmente paralelas entre sí y la pared posterior 46 presenta una longitud superior a la de la pared frontal 44, y las paredes laterales opuestas 48 no son paralelas entre sí y convergen mutuamente desde la pared posterior 46 hacia la pared frontal 44.

50 Además, las dimensiones globales del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 y el espesor total del mismo son sustancialmente los mismos que las dimensiones y el espesor de los portaobjetos para pruebas con reactivos de química seca que se dan a conocer en la patente de Heidt, *et al.* y la solicitud publicada de Rich, *et al.* De este modo, se pueden utilizar los portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 con dichos instrumentos analíticos que se dan a conocer en la patente de Heidt, *et al.* y la solicitud publicada de Rich, *et al.*, y con otros instrumentos analíticos convencionales, tal como los portaobjetos para pruebas de química seca que presentan una estructura que rodea una parte de una película que presenta un reactivo, tal como se da a da a conocer en el la patente de Heidt, *et al.* y la solicitud publicada de Rich, *et al.* mencionadas anteriormente.

60 Además, tanto la pieza de cubierta 6 como la pieza inferior 8 se realizan para que comprendan y definan el alojamiento 4 del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 con una hendidura de indexación 50 destinada a una orientación adecuada del portaobjetos para pruebas del instrumento analítico, y unas entalladuras laterales 54 utilizadas para cargar los portaobjetos para pruebas del instrumento analítico del mismo modo y en las mismas ubicaciones que las hendiduras laterales y las entalladuras que se encuentran en los portaobjetos para pruebas de química seca que se dan a conocer en la patente de Heidt *et al.* y la solicitud publicada de Rich, *et al.*

mencionadas anteriormente. Se debe tener en cuenta que la pared lateral 30 de la pieza de cubierta 6 se extiende alrededor de la muesca 50 y las entalladuras laterales 54 para garantizar que el alojamiento 4 sea sustancialmente estanco.

5 Tal como se ha mencionado anteriormente, se dispone un material absorbente 12 (es decir, la matriz de soporte porosa o matriz de flujo de fluido) dentro de los límites de la cavidad del alojamiento 10. La matriz de flujo de fluido 12 se corta a troquel preferentemente a partir de una lámina de dicho material y se conforma para que se adapte a las dimensiones interiores del alojamiento 4. Con mayor exactitud y tal como se puede observar en los dibujos, la matriz de flujo de fluido 12 comprende una parte con una hendidura 56 y unas partes laterales entalladas 58 para alojar la hendidura 50 y las entalladuras laterales 54 realizadas en el alojamiento 4, y comprende cuatro recortes 60 realizados a través de su espesor que se alinean y dimensionan para alojar las columnas o soportes 34 de la pieza inferior 8 de tal modo que no interfieran con la capacidad de los postes 32 de la pieza de cubierta 6 de alojarse en los orificios cilíndricos 36 de las columnas de la pieza inferior 8. Por lo tanto, las columnas 34 y los postes 32 de la pieza inferior 8 y la pieza de cubierta 6, respectivamente, al pasar por el espesor de la matriz de flujo de fluido 12 ayudan a mantener la matriz de flujo de fluido en su lugar dentro de la cavidad interior 10 del alojamiento, sin que se produzcan desplazamientos.

Tal como se mencionó anteriormente, la matriz 12 de flujo de fluido se dimensiona y conforma para que se ajuste dentro de los límites de la cavidad interior 10 del alojamiento del portaobjetos para pruebas 4. Preferentemente, sin embargo, la matriz se dimensiona para que sea ligeramente más pequeña que las dimensiones de la cavidad interior 10 de tal modo que sus bordes laterales se encuentran ligeramente separados de la superficie interior de la pared lateral 30 de la pieza de cubierta 6 para definir un canal o pozo 62 (véase la figura 20) entre la matriz 12 y la pared lateral 30 por lo menos parcialmente alrededor de la periferia del alojamiento. Se proporciona dicho canal o pozo 62 para que aloje cualquier derrame de la muestra de fluido, reactivo o disolución de lavado de la matriz 12 que se prevé que se sature con dichos fluidos. El pozo o canal 62 proporciona una capacidad superior al volumen de la muestra de fluido, reactivos y disoluciones de lavado que saturan la matriz de flujo de fluido 12. El volumen preferido de la cavidad interior 10 definida por el alojamiento 4 del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis se encuentra comprendido entre aproximadamente 20 microlitros y aproximadamente 200 microlitros, y es preferentemente de aproximadamente 270 microlitros. En diversas formas de realización alternativas del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 de la presente invención, la matriz absorbente 12 puede presentar un volumen que ocupe aproximadamente el 50 por ciento, o aproximadamente el 60 por ciento, o aproximadamente el 70 por ciento, o aproximadamente el 80 por ciento, o aproximadamente el 90 por ciento, del espacio interior 10 definido por el alojamiento.

35 El material de la matriz de flujo presenta preferentemente las características siguientes: (1) baja afinidad no específica hacia los materiales de muestra y reactivos de unión específica marcada, (2) capacidad para transportar un líquido por acción capilar a lo largo de una cierta distancia con un flujo de líquido uniforme a través de la matriz 12, y (3) unión rápida hacia reactivos de unión específicos inmovilizados (por ejemplo, mediante enlace covalente o no covalente, o por encapsulación física). Los materiales que presentan dichas características comprenden bases fibrosas constituidas por fibras sintéticas o naturales (por ejemplo, materiales basados en vidrio o celulosa o polímeros termoplásticos, tales como polietileno, polipropileno o poliéster); estructuras sinterizadas que comprenden materiales particulados (por ejemplo, vidrio o diversos polímeros termoplásticos); o películas de membrana moldeadas compuestas de nitrocelulosa, nailon, polisulfona o similares (generalmente de naturaleza sintética). La presente invención puede utilizar una matriz de flujo 12 que comprenda partículas finas sinterizadas de polietileno, conocidas habitualmente como polietileno poroso, tales como perlas de polietileno sinterizado; preferentemente, dichos materiales presentan una densidad comprendida entre 0,35 y 0,55 gramos por centímetro cúbico, un tamaño de poro comprendido entre 5 y 40 micrómetros, y un volumen intersticial comprendido entre el 40 y el 60 por ciento. Se prefiere el polietileno particulado compuesto por polietileno reticulado o de peso molecular ultraelevado. Una matriz de flujo 12 compuesta de polietileno poroso presenta todas las características pretendidas mencionadas anteriormente y, además, se realiza fácilmente en diversos tamaños y formas. Un material particularmente preferido es el polietileno poroso de 10 a 15 micrómetros de Chromex Corporation FN # 38-244-1 (Brooklyn, N.Y.). Otro material preferido es la matriz de fluencia lateral Fusion 5™ disponible en Whatman, Inc., EE. UU.

55 La matriz de soporte porosa 12 puede estar realizada de un material que presente una baja afinidad hacia el analito y los reactivos para pruebas. Con ello se minimiza o evita el tratamiento preliminar de la matriz para pruebas a fin de evitar la unión inespecífica del analito y/o los reactivos. Sin embargo, los materiales que requieren tratamiento preliminar pueden ofrecer ventajas con respecto a los materiales que no requieren tratamiento preliminar. Por lo tanto, no hace falta evitar ciertos materiales simplemente porque requieren tratamiento preliminar. Las matrices hidrófilas disminuyen generalmente la cantidad de unión no específica con la matriz 12.

60 En un aspecto, la matriz de soporte porosa 12 puede presentar una estructura de poro abierto con un diámetro medio de poro comprendido entre 1 y 250 micrómetros y, en aspectos adicionales, entre aproximadamente 3 y 65 100 micrómetros, o entre aproximadamente 10 y aproximadamente 50 micrómetros. Las matrices 12 presentan

un espesor de algunas milésimas (0,001 pulgadas) a varias milésimas de pulgada, normalmente en el intervalo comprendido entre aproximadamente 10 milésimas y aproximadamente 20 milésimas y, más preferentemente, aproximadamente 16 milésimas de pulgada.

5 Un ejemplo de una matriz de soporte porosa 12 apta en la que se produzca un flujo omnidireccional es el material de lámina de polietileno de alta densidad o de peso molecular ultraelevado fabricado por Porex Technologies Corp. de Fairburn, Ga., EE. UU. Dicho material se realiza a partir de la fusión de partículas esféricas de polietileno de peso molecular ultraelevado (UHMW-PE) mediante sinterización. Ello crea una estructura porosa con un tamaño de poro medio comprendido entre ocho a 20 micrómetros, dependiendo del tamaño de las partículas (20 a 60 micrómetros, respectivamente). La superficie de polietileno se trata con plasma de oxígeno y se recubre a continuación con capas alternas de polietilenimina (PEI) y ácido poliacrílico (PAA) para crear una superficie hidrófila sin tensioactivos con un índice de absorción comprendido entre 0,01 y 0,5 cm/s.

15 Aunque se ha descubierto que las matrices 12 realizadas de polietileno resultan muy satisfactorias, se pueden utilizar materiales de flujo omnidireccional realizados con otras olefinas u otros materiales termoplásticos, por ejemplo, cloruro de polivinilo, acetato de polivinilo, copolímeros de acetato de vinilo y cloruro de vinilo, poliamida, policarbonato, poliestireno, etc. Los ejemplos de materiales aptos comprenden la membrana de soporte de nailon Magna de GE Osmonics (Minnetonka, Minn.), la membrana de nailon Novylon de CUNO Inc. (Meriden, Conn.) y la membrana Durapore de Millipore (Billerica, Mass.).

20 Los materiales de la matriz se pueden ranurar, cortar, troquelar o punzonar en una pluralidad de formas antes de su incorporación en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 según la presente invención.

25 Otros materiales porosos aptos para el soporte absorbente 12 pueden comprender materiales naturales, sintéticos o de origen natural o modificados sintéticamente: papeles (fibrosos) o membranas (microporosas) de materiales de celulosa tales como papel, celulosa y derivados de la celulosa tales como acetato de celulosa y nitrocelulosa, vitrofibra, fibra de vidrio, tela, ambas de origen natural (por ejemplo, algodón) y sintético (por ejemplo, nailon); geles porosos tales como gel de sílice, agarosa, dextrano y gelatina; matrices fibrosas porosas; materiales basados en el almidón, cadenas de dextrano reticulado; materia cerámica; olefina o materiales termoplásticos que comprenden películas de cloruro de polivinilo, polietileno, acetato de polivinilo, poliamida, policarbonato, poliestireno, copolímeros de acetato de vinilo y cloruro de vinilo y combinaciones de cloruro de polivinilo - sílice; y similares. Dicha lista se proporciona a título de ejemplo, pero no pretende ser limitativa.

35 Los materiales porosos y las especificaciones para la matriz de flujo de fluido descrita en la patente US n.º 5.726.010, por ejemplo, mencionados anteriormente, se pueden utilizar en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 según la presente invención. Uno o más reactivos de captura de analito se encuentran inmovilizados en la matriz de flujo de fluido 12 y dispuestos sobre la abertura inferior 40 realizada en la pieza inferior 8 y debajo de la abertura superior 38 realizada en la pieza de cubierta 6. El reactivo de captura del analito es una molécula que se encuentra unida a la matriz y que presenta una afinidad específica hacia un analito de interés. Preferentemente, la afinidad se produce gracias al reactivo que presenta una estructura tridimensional complementaria con respecto al analito, por ejemplo, tal como se observa en la relación entre una enzima y un sustrato o entre un antígeno y un anticuerpo. Dentro de un par dado, cualquiera de los elementos se puede considerar el analito o el reactivo de captura. Esta definición sirve únicamente para diferenciar el elemento por detectar en la muestra (es decir, el analito) del reactivo que se encuentra en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 (es decir, el reactivo de captura del analito).

45 Tal como se indicó anteriormente, se pueden inmovilizar diferentes reactivos de captura de analito en la matriz 12 para distintas pruebas. Por ejemplo, un reactivo de captura de analito puede comprender un anticuerpo inmovilizado específico para el virus de la inmunodeficiencia felina y otro puede comprender un anticuerpo inmovilizado específico del virus de la leucemia felina. Se puede depositar una única muestra biológica (por ejemplo, una muestra de suero felino) en el portaobjetos 2 y analizarse para detectar la presencia de uno o ambos virus. Se puede depositar previamente el ligando del analito inmovilizado en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 antes de su ensamblaje o se puede depositar en el portaobjetos ensamblado y, opcionalmente, secarse térmicamente.

55 Ejemplo: Inmunoanálisis de la T4

A continuación, se describirá un procedimiento de realización de una prueba que utiliza el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 según la presente invención, y se hará referencia a las figuras 21A a 28 de los dibujos. En el ejemplo representado en las figuras 21A y 21B, se realiza una prueba de la tiroxina (T4) utilizando un conjugado anticuerpo-peroxidasa de rábano. Para esta descripción, debe hacerse referencia a la solicitud publicada de Rich, *et al.* mencionada anteriormente y la descripción de la estructura y funcionamiento del analizador químico en la misma, pero asimismo a la figura 22, que ilustra un analizador químico 64 similar al que se da a conocer en la solicitud publicada de Rich, *et al.*, y a las figuras 23 a 28 correspondientes que representan los elementos del analizador químico a los que se hace referencia. Se prevé que los consumibles de la prueba

comprenden el portaobjetos para la T4; un extractor de diluyente "CTdx" que comprende un conjugado, una sustancia amortiguadora de lavado y un sustrato; y una muestra, tal como suero o plasma.

5 La primera etapa del procedimiento comprende cargar todos los consumibles en el analizador químico. Con mayor exactitud, uno o más de los portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 según la presente invención se carga(n) en un mecanismo de inserción de portaobjetos 20 (véase la Figura 23) (asimismo referencia numérica 20 en la solicitud de Rich, *et al.*) dispuesto detrás de las puertas 16 (véase figura 23) del analizador químico (asimismo referencia numérica 16 en la solicitud de Rich *et al.*), que se abre para acceder a uno de los dos mecanismos de inserción del portaobjetos. El mecanismo de inserción de portaobjetos carga el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis, entre otros portaobjetos para pruebas con reactivos químicos, sobre un mecanismo de transporte del portaobjetos 26 (véase la figura 24) (también la referencia numérica 26 de la solicitud de Rich *et al.*). El mecanismo de transporte del portaobjetos 26 dispone selectivamente el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis debajo de un dispositivo dosificador de la muestra de fluido 84 (véase la figura 24) (también referencia numérica 84 de la solicitud de Rich, *et al.*) y encima de uno o ambos de entre un reflectómetro 684 (véase la figura 25) (también la referencia numérica 684 de la solicitud de Rich *et al.*) y un fluorómetro 654 (véase la figura 26) (también la referencia numérica 654 de la solicitud de Rich *et al.*) para realizar mediciones colorimétricas o de la fluorescencia.

20 Se añade un volumen predeterminado de muestra de fluido, tal como sangre, suero o similar, a un frasco de muestra 242 (véase la figura 27) (también referencia numérica 242 de la solicitud de Rich, *et al.*), y se dispone el frasco de muestra en el mecanismo de inserción 20 del portaobjetos en un pocillo 206 (véase la figura 27) (también la referencia numérica 206 de la solicitud de Rich, *et al.*) para sujetar el frasco. Además, los frascos independientes que comprenden un reactivo conjugado líquido, un reactivo de lavado y un reactivo detector (TMB) se pueden cargar en los pocillos correspondientes realizados en un extractor de diluyente 136 (véase la figura 28) detrás de la puerta 132 (véanse las referencias numéricas 36 y 32 en la solicitud de Rich, *et al.*) del analizador químico o en cualquier otra ubicación apta, siempre que los reactivos sean accesibles para el sistema dosificador de fluidos del analizador (véase la etapa 1 de la figura 21A).

30 A continuación, en la etapa 2 (véase la figura 21A), la muestra de fluido y el reactivo conjugado se mezclan mediante el dispositivo dosificador 84 del analizador químico 64 en un frasco conjugado o en un frasco vacío independiente dispuesto en el extractor de diluyente 136 detrás de la puerta 132. La mezcla de la muestra y el conjugado se puede realizar del modo que se da a conocer en la solicitud publicada de Rich, *et al.* A continuación, se incuba la mezcla de muestra/conjugado dentro del analizador químico 64 a una temperatura predeterminada (por ejemplo, 37 °C) durante un período de tiempo predeterminado (por ejemplo, cinco minutos). Cuando se mezclan la muestra y el reactivo conjugado, la T4 se disocia de las proteínas de unión con el suero en la muestra de fluido y a continuación se une con el anticuerpo anti-T4 *HRP.

40 Tras la incubación, se dispensa una cantidad relativamente pequeña (preferentemente 8 microlitros) de la mezcla de muestra/conjugado en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 mediante el dispositivo dosificador 84 del analizador químico, tal como se indica en la etapa 3 de la figura 21A. Aquí, el anticuerpo anti-T4 *HRP no unido se une a la mancha de reactivo de captura inmovilizado en la matriz 12 de flujo de fluido, que en el ejemplo representado es T3-PAA. Un método utilizable para aspirar la mezcla de muestra conjugado del frasco y depositar la mezcla en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 mediante el dispositivo dosificador 84 del analizador químico se da a conocer en la solicitud publicada de Rich *et al.* mencionada anteriormente.

45 A continuación, en la etapa 4 representada en la figura 21A, se lava una pluralidad de veces el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2. Con mayor exactitud, el portaobjetos para pruebas se somete preferentemente a cuatro lavados utilizando 8 microlitros de reactivo de lavado para cada lavado dispensado por el dispositivo dosificador 84 del analizador químico, separándose preferentemente cada lavado en el tiempo aproximadamente 30 segundos. El dispositivo dosificador 84 del analizador químico aspira preferentemente por lo menos 32 microlitros de reactivo de lavado de un frasco del extractor de diluyente que comprende dicha disolución y dispensa periódicamente preferentemente 8 microlitros del reactivo de lavado en el portaobjetos 2. Con dichos lavados, el anticuerpo anti-T4 *HRP unido a la T4 sérica se elimina por lavado.

55 La disolución de lavado es un reactivo líquido que sirve para eliminar el material no unido de por lo menos la parte central de la matriz de flujo de fluido 12 dispuesta encima de la abertura inferior 40 de la pieza inferior 8 o en la región de la matriz 12 que se somete a pruebas de medición mediante el reflectómetro o el fluorómetro. El reactivo de lavado comprende un humector, tal como un tensioactivo, o cualquier otro componente capaz de permitir que el lavado humedezca la matriz de flujo de fluido 12. Algunos ejemplos adicionales de reactivos de lavado comprenden alcohol (por ejemplo, metanol) o cualquier otro disolvente orgánico miscible en agua. De este modo, en el ejemplo representado en las figuras 21A y 21B, la muestra no unida y el conjugado anticuerpo sin unir de peroxidasa de rábano picante se desplazan mediante el reactivo de lavado. Se debería disponer de tiempo suficiente entre la dispensación de la mezcla muestra/conjugado en el portaobjetos (etapa 3 de la figura 21A) y el inicio de la etapa de lavado múltiple (etapa 4 de la figura 21A) para maximizar la unión del analito de la muestra con el reactivo de enlace específico.

Tras esperar aproximadamente 30 segundos después de que la matriz de flujo de fluido 12 se haya lavado por cuarta vez, el sustrato, o reactivo detector, se dispensa en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 en un volumen predeterminado, preferentemente aproximadamente de 8 microlitros (véase la etapa 5 de la figura 21A). El sustrato, o reactivo detector, produce una señal detectable tras la reacción con el conjugado enzima-anticuerpo en la parte central de la matriz 12. Un ejemplo de un reactivo detector, o sustrato, que produce un producto final insoluble tras la reacción con la enzima, peroxidasa de rábano picante, es la tetrametilbenzidina, o TMB, por ejemplo, TMBblue, disponible en TSI Incorporated de Worcester, Massachusetts, sección n.º TM 101. El producto final producido por el sustrato TMBblue es un colorante que absorbe la luz. En el ejemplo representado en las figuras 21A y 21B, el anticuerpo anti-T4 *HRP unido al T3-PAA marcado desarrolla color, que se puede detectar mediante el reflectómetro 684 del analizador químico. Alternativamente, se puede elegir un reactivo detector, o sustrato, para hacer que se emita luz desde el portaobjetos tras la irradiación, por ejemplo, fluorescencia, mediante un fluorómetro 654 del analizador químico. El grado de cambio de color de la matriz refleja la cantidad de analito en la muestra de fluido. Los ejemplos y descripciones de diversos reactivos conjugados, reactivos de unión específica, matrices de flujo de fluidos, reactivos de lavado y reactivos detectores y sustratos se dan a conocer en la patente US n.º 5.726.010 mencionada anteriormente y en las patentes y publicaciones citadas en la misma.

La figura 21B representa un gráfico con ejemplos de resultados de pruebas de mediciones de la reflectancia en función del tiempo para un portaobjetos de T4 siguiendo las etapas del procedimiento descrito anteriormente y que se representan en la figura 21A. Las mediciones de la reflectancia se realizan preferentemente a 645 nanómetros cada 15 segundos en el portaobjetos de T4 marcado con la muestra (etiquetado como "7,0 µg/dl T4" en la figura 21A) y preferentemente un portaobjetos T4 de control no marcado con muestra (etiquetado como "0,0 µg-dl T4" en la figura 21A). Los ejemplos de medidas de la reflectancia tanto del portaobjetos de la muestra de T4 (representada por la línea con rombos) como del portaobjetos de control de T4 (representado por la línea con cuadrados) se trazan en el gráfico de la figura 21B.

Ejemplos: Inmunoanálisis de la lipasa pancreática felina (fPL)

Se describirá a continuación la realización y la utilización de un portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis para la lipasa pancreática felina (fPL). El portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis para la fPL puede presentar la estructura representada en las figuras 9 a 20 o en las formas de realización representadas en las figuras 1 a 4, tal como se describirá a continuación con mayor detalle.

Preferentemente, al formar el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis para la fPL, la matriz porosa 12, que se encuentra constituida preferentemente por un material absorbente Fusion 5™, se dispone en el alojamiento del portaobjetos 4 que presenta un lado inferior transparente (es decir, que transmite la luz). Se disponen diez microlitros de partículas del reactivo fPL 17A sobre la matriz porosa (en el lado superior o en el lado inferior de la matriz). A continuación, se secan los portaobjetos marcados en un túnel de secado durante aproximadamente 0,5 horas a aproximadamente 95° Fahrenheit. Se pueden utilizar los portaobjetos secos inmediatamente o almacenarse preferentemente a aproximadamente 4° Celsius.

A continuación, se describirá un protocolo de dos etapas para probar la lipasa pancreática felina y se representa en las figuras 5 y 6 de los dibujos. Se aspiran dieciséis microlitros de muestra de una cubeta de muestra y se dispensan a continuación sobre el portaobjetos para pruebas en partes alícuotas de 4 microlitros. A continuación, se aspiran 16 microlitros de conjugado de la cubeta de conjugado y se dispensan a continuación sobre el portaobjetos en partes alícuotas de 4 microlitros. Tras ello se aspiran 24 microlitros de disolución amortiguadora de lavado de la cubeta de lavado y se dispensan a continuación sobre el portaobjetos en partes alícuotas de 4 microlitros. A continuación, se aspiran 24 microlitros de sustrato de TMB (es decir, un reactivo detector) de la copa de TMB, y se dispensan sobre el portaobjetos en partes alícuotas de 4 microlitros. Por último, se registra el desarrollo del color azul de la marca de la matriz mediante reflectancias ópticas (a 645 nanómetros) durante 60 segundos, preferentemente en intervalos de un segundo. Se trazan los datos y la curva lineal resultante se ajusta con Excel™ para obtener la lectura cinética de la prueba. La curva de progreso de la fPL y la curva de dosis calibrada de la fPL para dicho protocolo de dos etapas que utiliza el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis según la presente invención se representan respectivamente en las figuras 5 y 6 de los dibujos.

Se describirá a continuación un protocolo de una etapa que utiliza el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis para fPL según la presente invención. En dicho protocolo de una sola etapa, la muestra y el conjugado se mezclan previamente en la punta de la pipeta del analizador químico y a continuación se dispensa la mezcla. A continuación, se describirá un protocolo de una etapa de mezcla en punta para analizar un múltiplo de tres portaobjetos de inmunoanálisis para fPL.

Normalmente, se aspiran en primer lugar 80 microlitros de muestra desde la cubeta de muestra hasta la punta de la pipeta del analizador químico. A continuación, se aspiran 80 microlitros de conjugado de la cubeta del conjugado hasta la punta de la pipeta del analizador que contiene la muestra. La muestra y el conjugado se

mezclan en la punta de la pipeta del analizador durante 10 segundos con un volumen de mezcla en punta de 10 microlitros.

5 En el caso de un protocolo de dispensación de premezcla múltiple, se dispensan 30 microlitros de la premezcla de muestra/conjugado en los portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis según la presente invención en partes alícuotas de 10 microlitros.

10 En el caso de un protocolo de dispensación de premezcla simple, se dispensan 15 microlitros de la premezcla de muestra/conjugado en los portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis según la presente invención en partes alícuotas de 15 microlitros, preferentemente con un retraso de dispensación post-premezcla de 90 segundos. Se proporciona preferentemente el retraso en el tiempo de dispensación post-premezcla para permitir un período de incubación suficiente para la reacción inmunitaria en los portaobjetos.

15 Tras ello se dispensan 30 microlitros de disolución amortiguadora de lavado en el portaobjetos en partes alícuotas de 10 microlitros. A continuación, se dispensan 12 microlitros de sustrato de TMB en el portaobjetos en partes alícuotas de 12 microlitros. Por último, se registra el desarrollo del color azul de la marca de la matriz 12 del portaobjetos para pruebas mediante reflectancias ópticas (OR) a 645 nanómetros durante 60 segundos, preferentemente en intervalos de dos segundos. A continuación, se trazan los datos para obtener una lectura del punto final de la prueba. En el caso del protocolo de prueba en una sola etapa de mezcla en punta, las curvas de dosificación del calibrador de la fPL especificadas que corresponden a la dosificación de premezcla única y múltiple se representan, respectivamente, en las figuras 7 y 8 de los dibujos.

25 Se puede medir cuantitativa o cualitativamente el cambio de color del portaobjetos 2 detectado por el reflectómetro o de la fluorescencia del portaobjetos detectado por el fluorómetro del analizador químico para determinar la cantidad de analito de la muestra de fluido (véase la figura 21B y la etapa 6 de la figura 21A). Se prevé que el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 según la presente invención pueda cargarse en el analizador químico con otros portaobjetos para inmunoanálisis o con portaobjetos para pruebas con reactivos de química seca, analizándose los portaobjetos al mismo tiempo. Otra ventaja del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis con respecto a otros procedimientos y dispositivos convencionales para realizar pruebas es la
30 cantidad mínima de muestra líquida y de reactivos líquidos necesarios para detectar la presencia de un analito en la muestra de fluido. En un dispositivo para pruebas de inmunoanálisis convencional al que habitualmente se hace referencia mediante la marca registrada SNAP y fabricado por IDEXX Laboratories, Inc., normalmente se requieren aproximadamente 1.330 microlitros de muestra y de reactivos líquidos para realizar la prueba y obtener unos resultados detectables. Sin embargo, con el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 según la
35 presente invención, se requieren menos de 100 microlitros de muestra y reactivos líquidos para realizar una prueba con la que se puedan obtener unos resultados detectables.

40 Se puede realizar el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 disponiendo una sección cortada a troquel de la matriz de soporte porosa 12 a partir de una lámina del mismo material entre una pieza de cubierta 6 y una pieza inferior 8 de un material plástico, tal como poliestireno, conformado específicamente para que se pueda acoplar. Las dos piezas se pueden unir entre sí aplicando calor o un adhesivo para definir un alojamiento sustancialmente estanco 4 en el que se dispone la matriz de soporte porosa 12. La matriz de soporte porosa 12 se puede marcar con un reactivo de unión específico inmovilizado antes de su inserción entre las dos piezas del portaobjetos, coincidentes, o se puede detectar con el reactivo de unión específico, y calentado a una
45 temperatura específica y durante un período de tiempo predeterminado para secar e inmovilizar el reactivo de unión en la parte central de la matriz 12. Si se proporciona una abertura inferior 40, realizada en la pieza inferior 8 del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2, antes de la inserción de la matriz de soporte porosa 12 entre la pieza de cubierta 6 y la pieza inferior 8, preferentemente se utiliza y dispone una lámina fina de material transparente (nítido) 42, tal como Mylar, dentro de la cavidad interior 10 definida por el alojamiento 4 del portaobjetos sobre la abertura inferior 40. Alternativamente, no se requiere dicha abertura inferior o lámina de cubierta si la pieza inferior 8 del portaobjetos está realizada de un material traslúcido o transparente, tal como poliestireno. El portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 según la presente invención se representa en las
50 figuras 1 a 4. Cada uno de los portaobjetos para pruebas 2 según la presente invención comprende un alojamiento para el portaobjetos 4, una matriz o membrana de soporte porosa 12, tal como se ha descrito anteriormente, y una película o lámina de cubierta 70. Tal como se representa en las figuras 1 a 4, el alojamiento del portaobjetos 4 presenta preferentemente una forma general trapezoidal, pero puede ser rectangular o cuadrado. De este modo, el alojamiento del portaobjetos comprende una pared frontal 44, una pared posterior 46 dispuesta enfrentada a la pared frontal, y dos paredes laterales opuestas 48. Si el alojamiento 4 del portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis presenta una forma rectangular, cada pared 44 a 48 se encuentra unida perpendicularmente a su pared adyacente siguiente. Si el alojamiento del portaobjetos para pruebas de
60 inmunoanálisis presenta una forma trapezoidal, tal como se representa en las figuras 1 a 4, las paredes frontal y posterior 44, 46 son generalmente paralelas entre sí y la pared posterior 46 presenta una longitud superior a la de la pared frontal 44, y las paredes laterales opuestas 48 no son paralelas entre sí y convergen mutuamente desde la pared posterior 46 hacia la pared frontal 44. La forma de realización del portaobjetos para pruebas de
65 inmunoanálisis representado en la figura 4 presenta una estructura similar al portaobjetos para pruebas de

inmunoanálisis representado en las figuras 1 a 3, con la excepción que las dos paredes laterales opuestas 48 son más largas que las del portaobjetos para pruebas representado en las figuras 1 a 3, proporcionando a la forma de realización del alojamiento del portaobjetos representado en la figura 4 una forma trapezoidal alargada. Tal como se ha descrito anteriormente, el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis 2 representado en las figuras 1 a 4 puede comprender una hendidura de indexación 50 destinada a una orientación adecuada del portaobjetos para pruebas de un instrumento analítico, y unas entalladuras laterales 54 utilizadas para cargar los portaobjetos para pruebas de un instrumento analítico del mismo modo y en las mismas ubicaciones que las hendiduras laterales y las entalladuras que se encuentran en los portaobjetos para pruebas de química seca que se dan a conocer en la patente de Heidt *et al.* y la solicitud publicada de Rich, *et al.* mencionadas anteriormente.

En el caso de los portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis según la presente invención representados en las figuras 1 a 4, el alojamiento del portaobjetos de prueba 4 comprende una parte rebajada 72 del lado superior 74 del mismo para definir una entalladura o cavidad 10 que puede presentar una forma cuadrada, rectangular o incluso trapezoidal. Dicha cavidad 10 se dimensiona para alojar por lo menos parcialmente en la misma la matriz de soporte porosa 12. La matriz 12 realiza la misma función y puede estar realizada del mismo material que la matriz descrita anteriormente, es decir, para comprender un reactivo de unión específico y para absorber un volumen predeterminado de muestra de fluido y reactivo conjugado. Además, la matriz de soporte porosa 12 está realizada del mismo modo que la descrita anteriormente y se dimensiona preferentemente para ser ligeramente más pequeña que las dimensiones de la cavidad 10 realizada en el alojamiento del portaobjetos 4 de tal modo que sus bordes laterales 76 se encuentran ligeramente separados de la paredes laterales interiores 78 del alojamiento del portaobjetos 4 que definen la cavidad 10 para definir un canal o pozo 62 entre la matriz 12 y las paredes laterales interiores 78 por lo menos parcialmente alrededor de la periferia del alojamiento. Tal como en las formas de realización adicionales, se proporciona dicho canal o pozo 62 para que aloje cualquier derrame de la muestra de fluido, reactivo o disolución de lavado de la matriz 12 que se prevé que se sature con dichos fluidos. El pozo o canal 62 proporciona una capacidad superior al volumen de la muestra de fluido, reactivos y disoluciones de lavado que saturan la matriz porosa 12. El volumen preferido de la cavidad 10 definida por la parte rebajada 72 del alojamiento 4 es el mismo que el descrito anteriormente.

El material preferido a partir del que se realiza la matriz porosa 12 se denomina con la marca registrada Fusion 5™ disponible en Whatman, Inc., EE. UU., que es un material basado en la fibra de vidrio que comprende un aglutinante de plástico.

Preferentemente, el alojamiento del portaobjetos 4 se realiza de poliestireno cristalino, aunque se puede realizar a partir de los mismos materiales que se han descrito anteriormente. El poliestireno cristalino es transparente o por lo menos traslúcido. Sin embargo, se prevé que se pueda realizar una abertura inferior 40, tal como se representa en la figura 10, a través del lado inferior del alojamiento 4 si el alojamiento está realizado de un material opaco o menos transmisor de la luz. A continuación, una lámina fina de material transparente o traslúcido (transmisor de la luz) 42 (véase la figura 11), tal como una película Mylar, se puede disponer sobre la abertura inferior y unirse adhesivamente o termosellarse con la superficie interior del lado inferior alineada con la entalladura o cavidad 10 del alojamiento del portaobjetos, es decir, interpuesta entre la superficie interior del lado inferior del alojamiento y el material poroso absorbente 12, para garantizar la estanqueidad del alojamiento 4. El material de estireno cristalino con el que se realiza preferentemente el alojamiento del portaobjetos 4 permite que la luz visible o infrarroja, y más preferentemente, la luz a una longitud de onda de aproximadamente 645 nanómetros penetre a través del mismo. De este modo, la luz emitida por el reflectómetro 684 o el fluorómetro 652 del instrumento analítico pasará a través del lado inferior transparente del alojamiento del portaobjetos 4 cuando el instrumento analítico esté realizando mediciones de la reflectancia o la fluorescencia en el portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis.

Preferentemente, se realiza un reborde rebajado 80, realizado por encima de la base de la parte rebajada 72 que aloja la matriz 12 pero ligeramente por debajo de la superficie del lado superior 74 del alojamiento del portaobjetos, en por lo menos dos lados opuestos de la entalladura o cavidad 10. Preferentemente, cada reborde 80 comprende una nervadura alargada 82 que sobresale ligeramente por encima y hacia el exterior de la superficie superior del reborde 80. Tal como se describirá, las nervaduras alargadas 82 se utilizan como "guías de energía" y se proporcionan para propósitos de soldadura. Las nervaduras 82 se unen a la superficie inferior plana de la película de recubrimiento 70 para fijar la película de recubrimiento 70 al alojamiento del portaobjetos 4 fijando de este modo la matriz 12 en la entalladura 10 debajo de la película de recubrimiento cuando se monta el portaobjetos. Además, el lado superior 74 del alojamiento del portaobjetos puede comprender un código de barras 86 dispuesto en el mismo para identificar el tipo de reactivo utilizado en el portaobjetos, cuyo código de barras 86 lo lee un lector de código óptico que forma parte del analizador químico.

Se dispone una fina película de poliestireno 70 en la matriz porosa 12 y preferentemente se dispone en, o encima de, la entalladura o cavidad 10 realizada en el lado superior 74 del alojamiento del portaobjetos 4. Preferentemente, dicha película de poliestireno 70 presenta un espesor de aproximadamente 0,2 milímetros. La película 70 se dimensiona preferentemente para ajustarse estrechamente dentro de la entalladura 10 en la que se disponen las guías de energía o nervaduras 82, disponiéndose y dimensionándose las paredes laterales

interiores opuestas 78 del alojamiento del portaobjetos 10 para ayudar a disponer la película de recubrimiento 70 entre las mismas.

5 La película de recubrimiento de poliestireno 70 comprende una abertura 88 realizada a través del espesor de la misma, de un modo muy similar a la pieza de recubrimiento 6 de los portaobjetos para pruebas de
 10 inmunoanálisis descritos anteriormente que presentan una abertura 38. Se proporciona dicha abertura superior 88 para poder dosificar una cantidad precisa de un fluido de muestra, tal como sangre, suero y similares, y reactivos en el portaobjetos para pruebas 2 y depositarla sobre la matriz porosa 12 dispuesta debajo de la
 15 abertura 88, mediante un dispositivo dosificador 84 de muestras del instrumento analítico de química seca, tal como se da a conocer en los documentos mencionados anteriormente de Heidt, *et al.* patente '229 y la solicitud publicada de Rich, *et al.* Dicha abertura superior 88 puede ser circular, tal como se representa en las figuras 1 a
 20 3, o de forma rectangular u oval o alargada, tal como se representa en la figura 4. Preferentemente, la abertura 88 realizada a través de la parte de la película superior 70 presenta una anchura a lo largo de un eje menor de la misma de entre aproximadamente 6 milímetros y aproximadamente 12 milímetros, y más preferentemente de
 25 aproximadamente 10 milímetros, si la abertura es de forma oblonga, y presenta un diámetro de entre aproximadamente 6 milímetros y aproximadamente 12 milímetros, y más preferentemente de aproximadamente 10 milímetros, si la abertura es de forma circular. La película de recubrimiento 70 se dispone en el alojamiento del portaobjetos para pruebas 4 disponiendo cuidadosamente la película de recubrimiento dentro de la entalladura 10 definida por las paredes laterales 78 del alojamiento de tal modo que la película 70 cubra completamente la matriz porosa 12 dispuesta en la entalladura o cavidad 10 del alojamiento del portaobjetos. La película de recubrimiento 70 se puede unir al alojamiento del portaobjetos 4 mediante un adhesivo, o mediante soldadura sónica o estampado en caliente de la película en el alojamiento. Incluso más preferentemente, la superficie inferior de la película 70 se dispone sobre los rebordes 80 y entra en contacto con las guías de energía o nervaduras 82, y la película 70 se une a los rebordes 80 mediante soldadura sónica utilizando las guías de energía 82.

REIVINDICACIONES

1. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2), que comprende:

- 5 - un alojamiento (4), definiendo el alojamiento (4) una cavidad (10); y
 - una matriz de soporte porosa (12), disponiéndose la matriz de soporte porosa (12) en la cavidad (10) del alojamiento (4) para alojar una muestra de fluido que comprende un analito, o uno o más reactivos líquidos; en el que el alojamiento (4) comprende un lado inferior que se realiza de un material transmisor de luz, un lado superior (74), comprendiendo el lado superior (74) una entalladura (72) para definir por lo menos parcialmente la cavidad (10) destinada a alojar la matriz de soporte porosa (12), un lado frontal (44), un lado posterior (46) opuesto al lado frontal (44), y unos lados laterales opuestos (48), encontrándose la cavidad (10) dispuesta entre los lados frontal y posterior (44, 46) y entre los lados laterales opuestos (48) del alojamiento (4);
 10 y en el que el portaobjetos para pruebas (2) comprende, además:
 15 una parte de película superior (70), disponiéndose la parte de la película superior (70) en el alojamiento (4) opuesto al lado inferior, y alineada y cubriendo la matriz de soporte porosa (12), presentando la parte de la película superior (70) una abertura (88) realizada a través del espesor de la misma que está comunicada con la cavidad (10) del alojamiento (4) y que está destinada a alojar la muestra de fluido que comprende un analito o uno o más reactivos líquidos, estando la matriz de soporte porosa (12) dispuesta dentro del alojamiento (4) y alineada con la abertura superior (88) realizada en la parte de la película (70) para recibir en la misma la muestra de fluido o el uno o más reactivos líquidos; y en el que el lado superior (74) del alojamiento (4) comprende por lo menos un reborde entallado (80), encontrándose el por lo menos un reborde entallado (80) adyacente a la parte entallada (72) que aloja la matriz de soporte porosa (12), presentando el por lo menos un reborde entallado (80) una superficie superior sobre la que descansa una parte de la superficie inferior de la parte de película superior (70).
- 20 2. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 1, en el que el alojamiento (4) presenta una forma sustancialmente trapezoidal y en el que los lados frontal y posterior (44, 46) del alojamiento (4) son sustancialmente paralelos entre sí y el lado posterior (46) es más largo que el lado frontal (44).
- 35 3. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 1, en el que la parte de la película superior (70) se realiza de un material de poliestireno.
- 40 4. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 1, en el que la parte de la película superior (70) presenta un espesor de 0,2 milímetros.
- 45 5. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 1, en el que la abertura (88) realizada a través de una parte de la película superior (70) es circular u oblonga.
- 50 6. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 5, en el que la abertura (88) realizada a través de la parte de la película superior (70) presenta una anchura a lo largo de un eje menor de la misma de entre 6 milímetros y 12 milímetros si la abertura (88) es de forma oblonga, y presenta un diámetro de entre 6 milímetros y 12 milímetros si la abertura (88) es de forma circular.
- 55 7. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 1, en el que la matriz de soporte porosa (12) se forma a partir de un material basado en la fibra de vidrio que comprende un aglutinante de plástico.
8. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 1, en el que el alojamiento del portaobjetos (4) se realiza de un material de poliestireno.
9. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 1, en el que el lado superior (74) del alojamiento del portaobjetos (4) comprende un código de barras (86) dispuesto en el mismo.
- 60 10. Portaobjetos para pruebas de inmunoanálisis (2) según la reivindicación 1, en el que el alojamiento (4) comprende una pared lateral (78) que rodea la cavidad (10), estando por lo menos una parte de la pared lateral (78) separada lateralmente de la matriz de soporte porosa (12) para definir entre las mismas un canal (62) destinado a recibir un exceso de volumen de la muestra de fluido o uno o más reactivos líquidos.

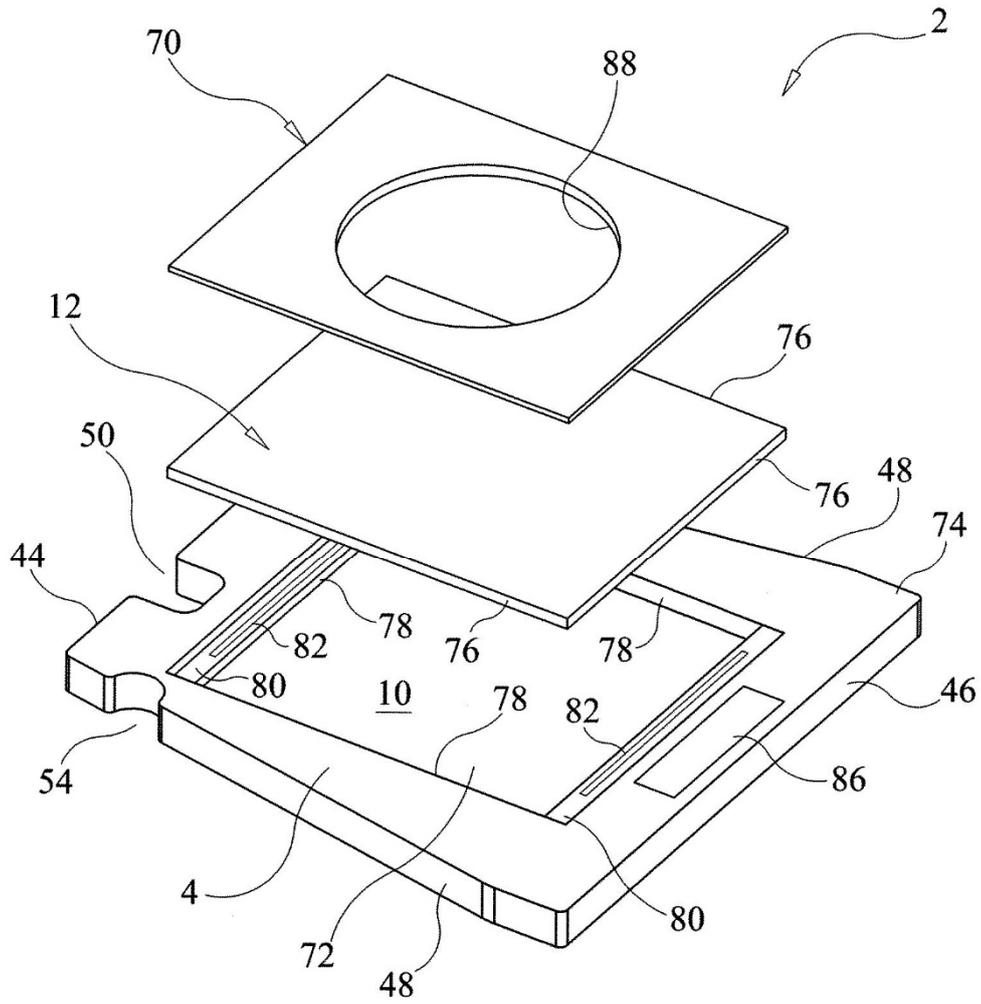


FIG. 1

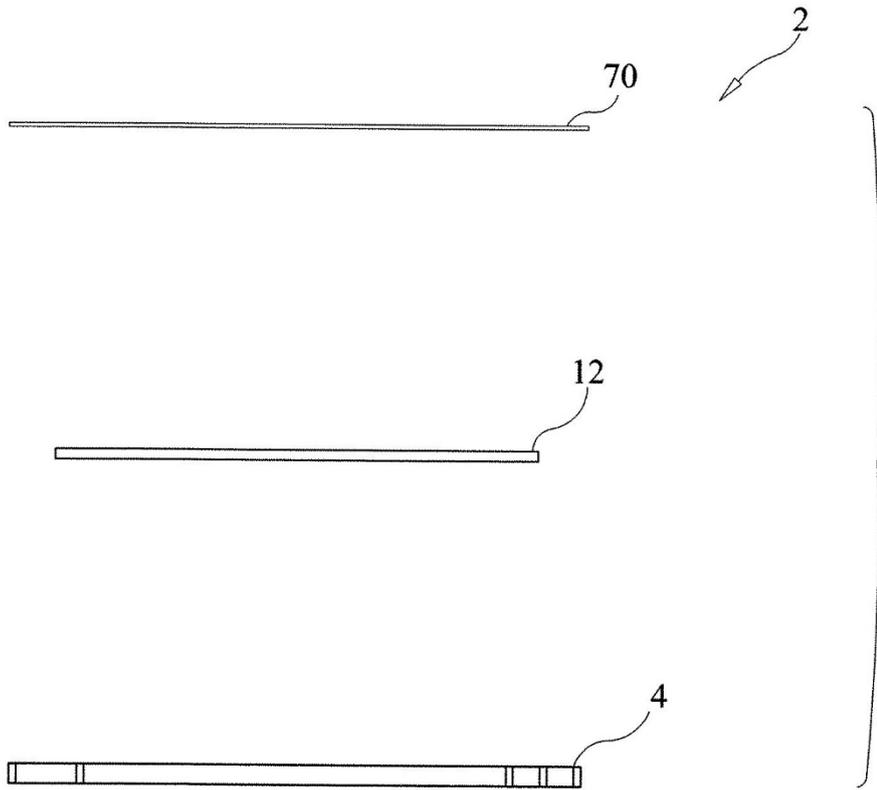
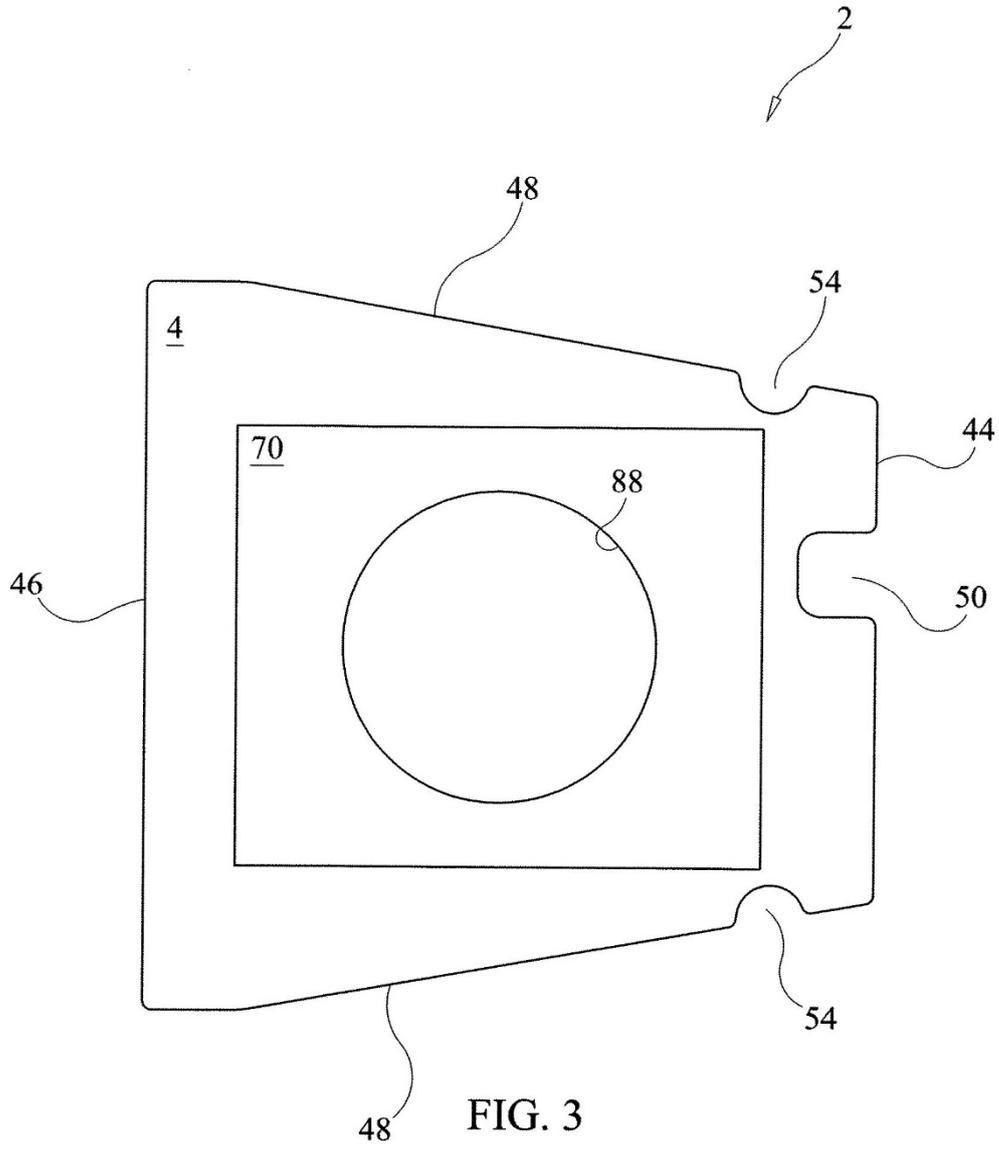


FIG. 2



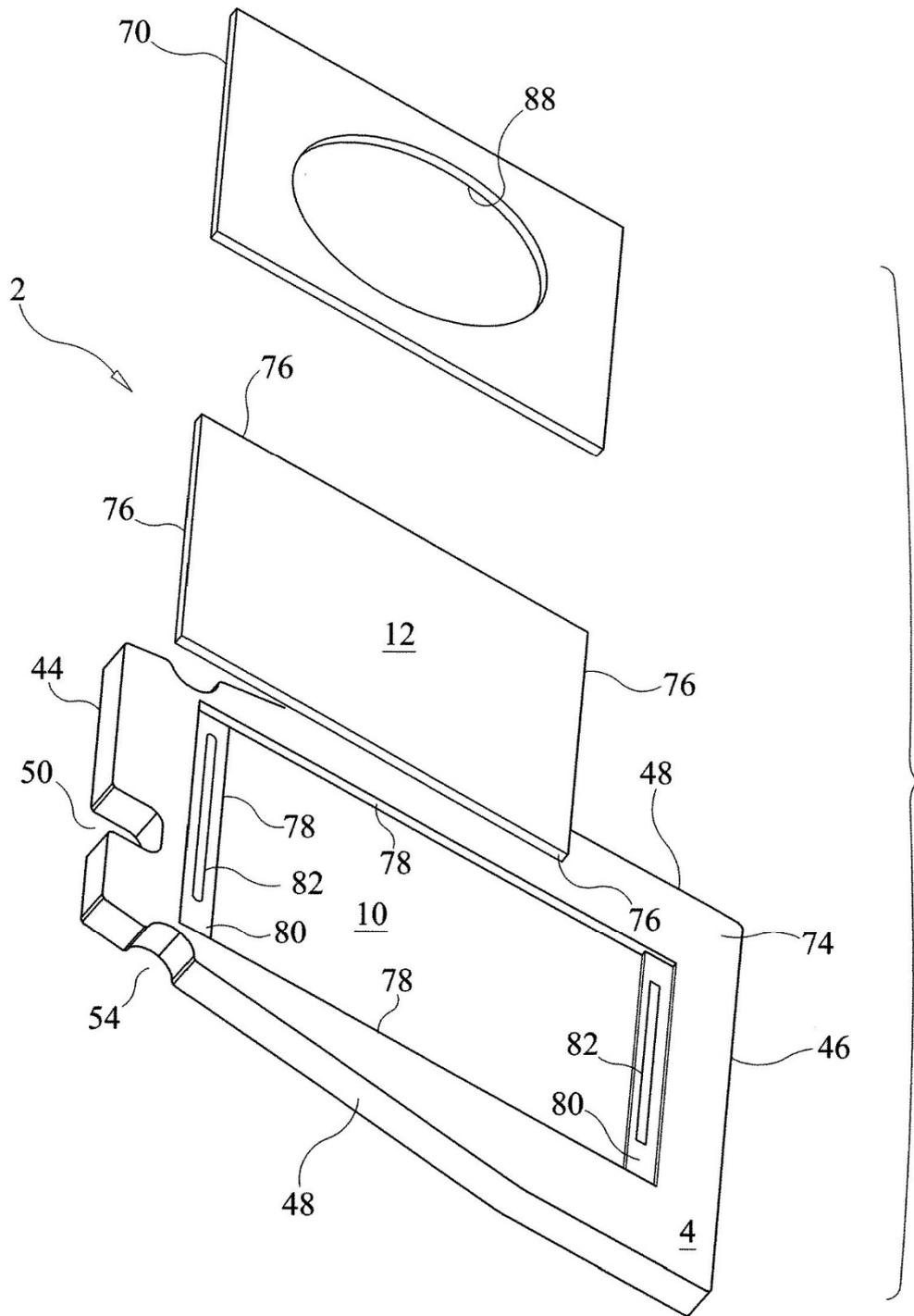


FIG. 4

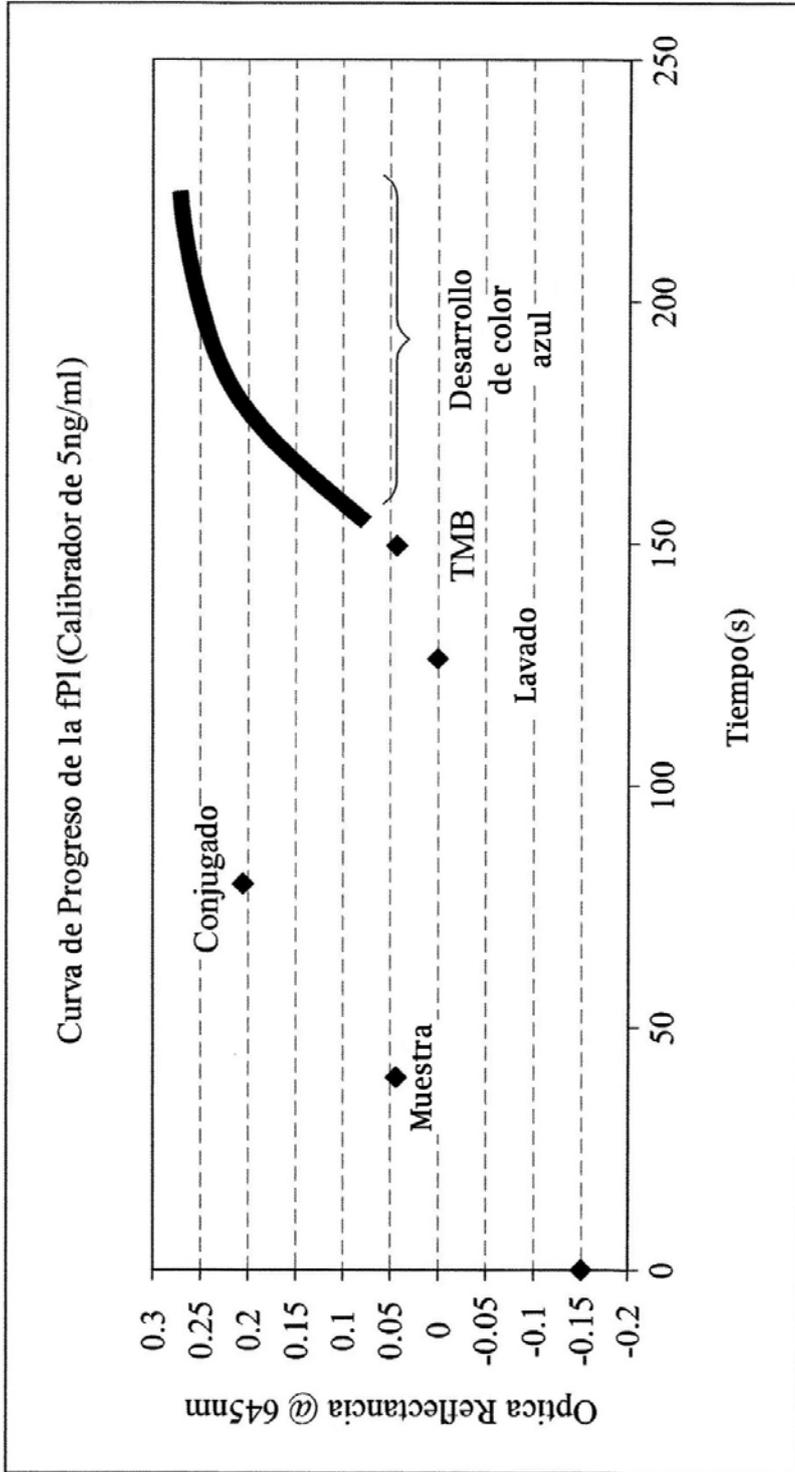


FIG. 5

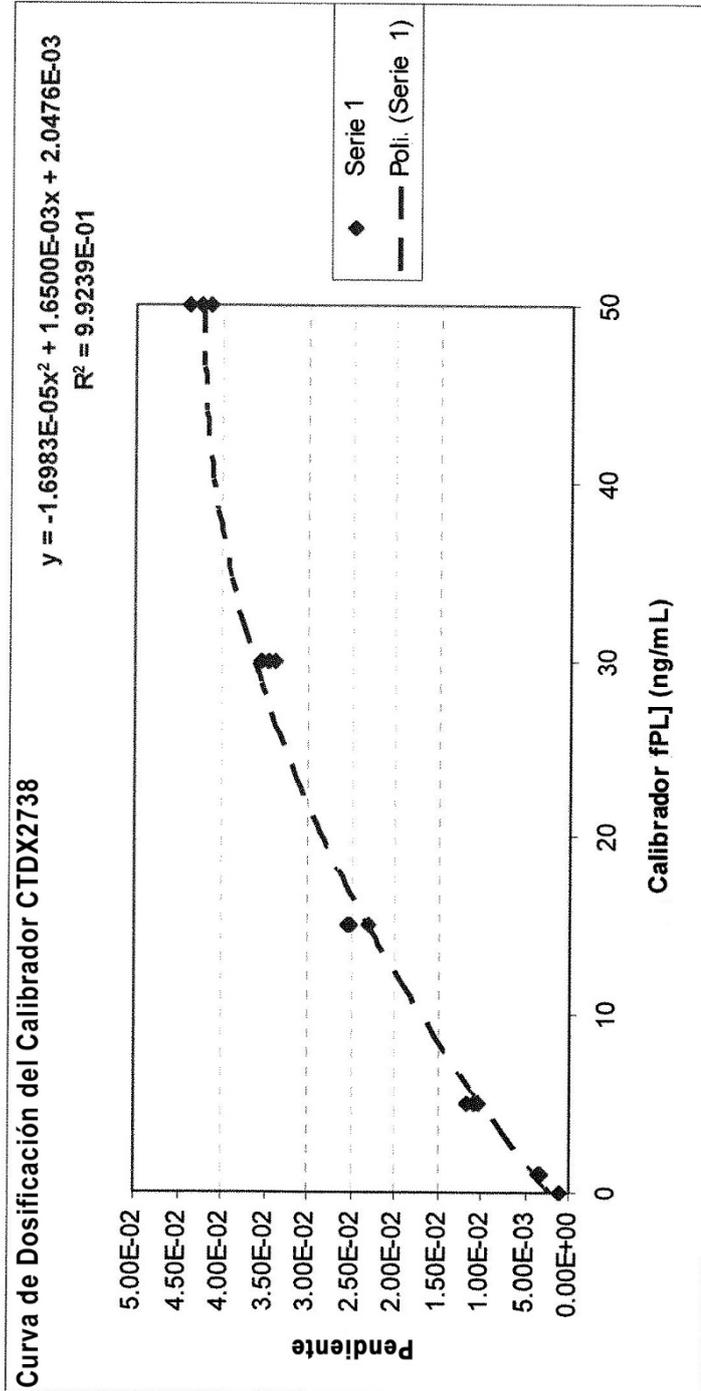


FIG. 6

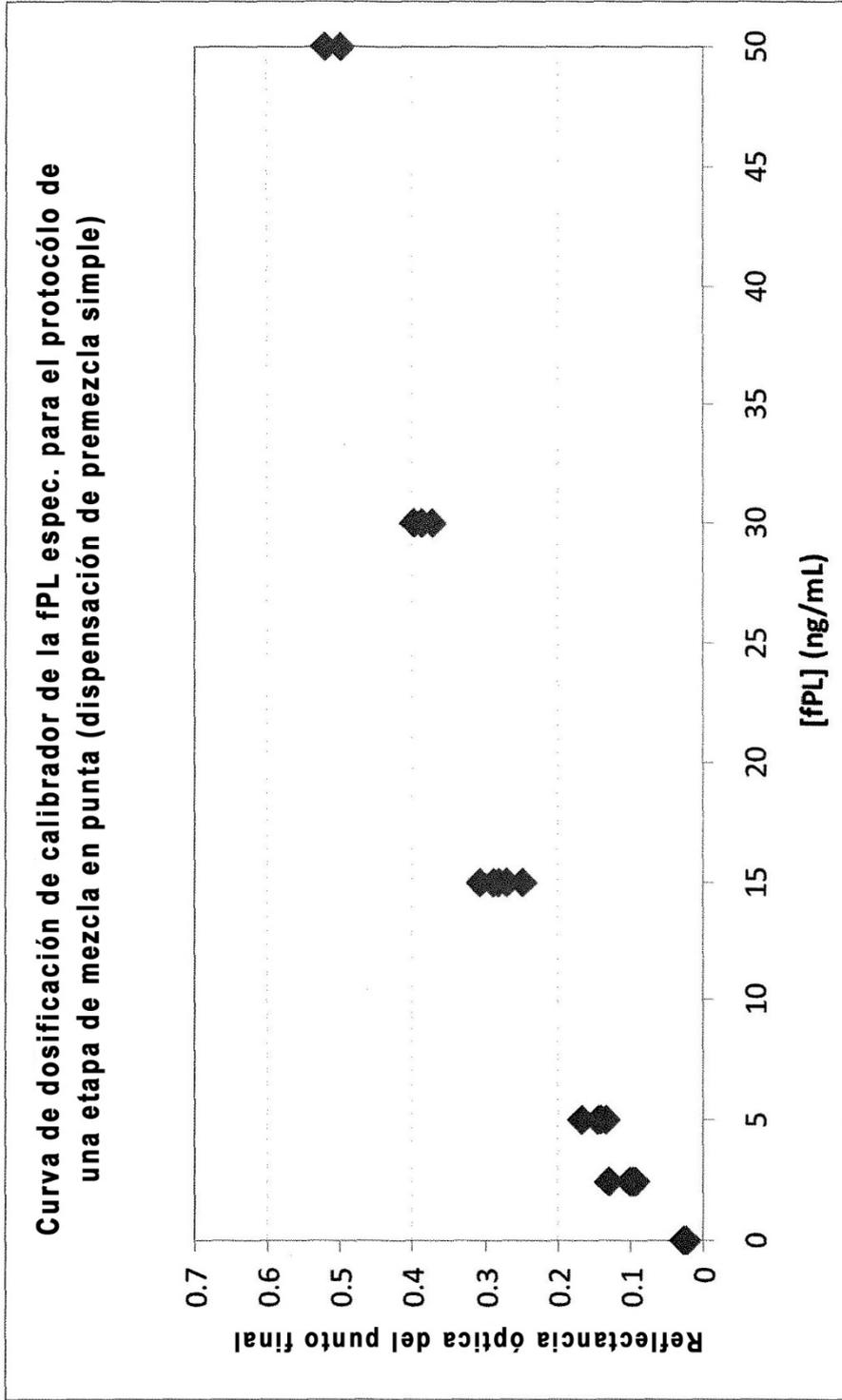


FIG. 7

Curva de dosificación del calibrador de la fPL espec. para el protocolo de una etapa de mezcla en punta
(dispensación de premezcla múltiple)

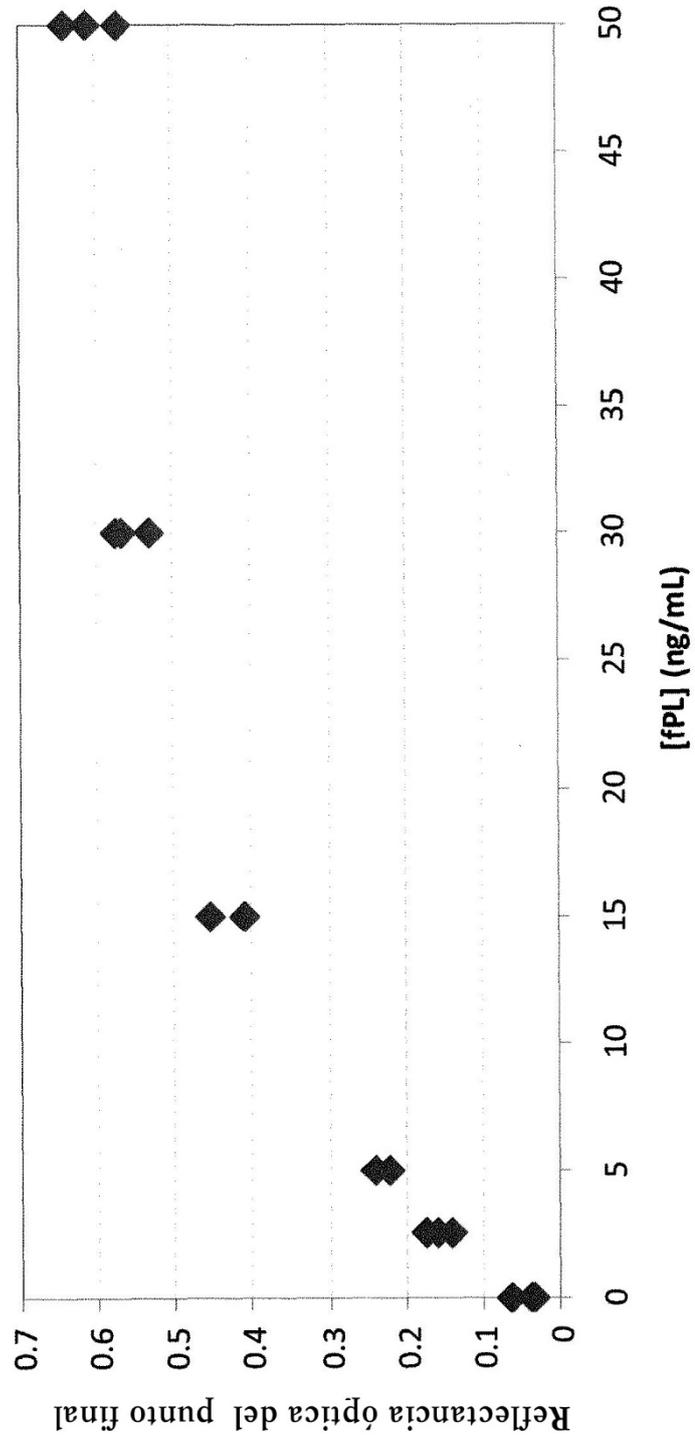


FIG. 8

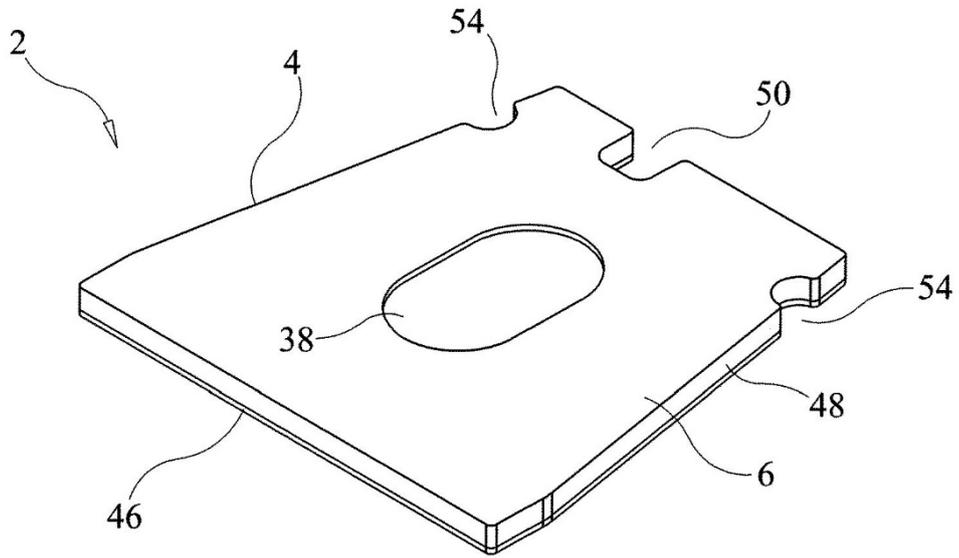


FIG. 9

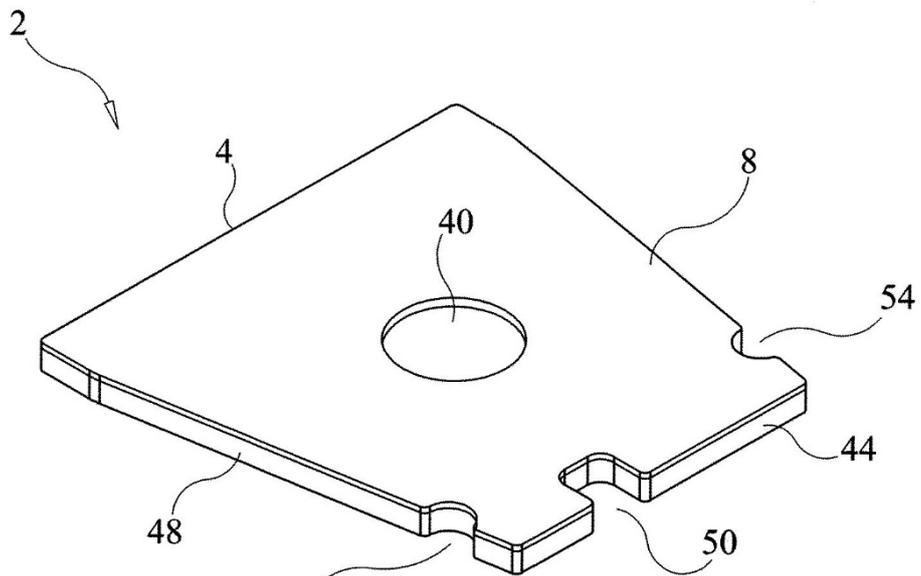


FIG. 10

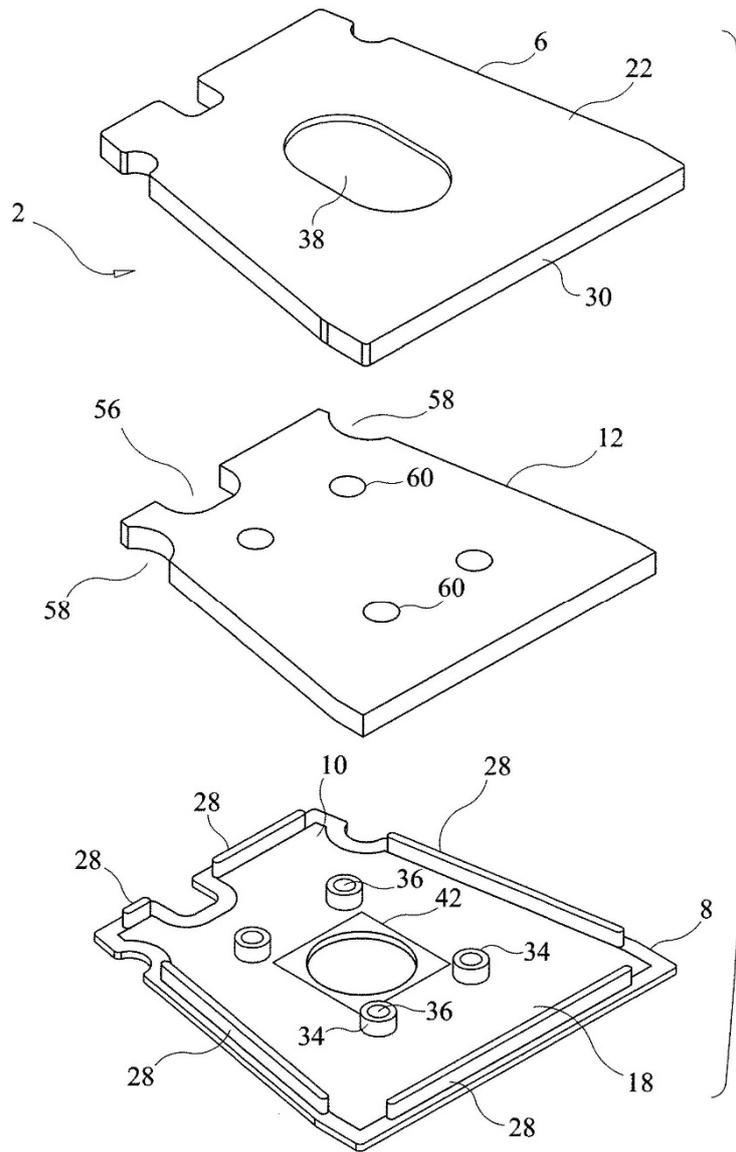


FIG. 11

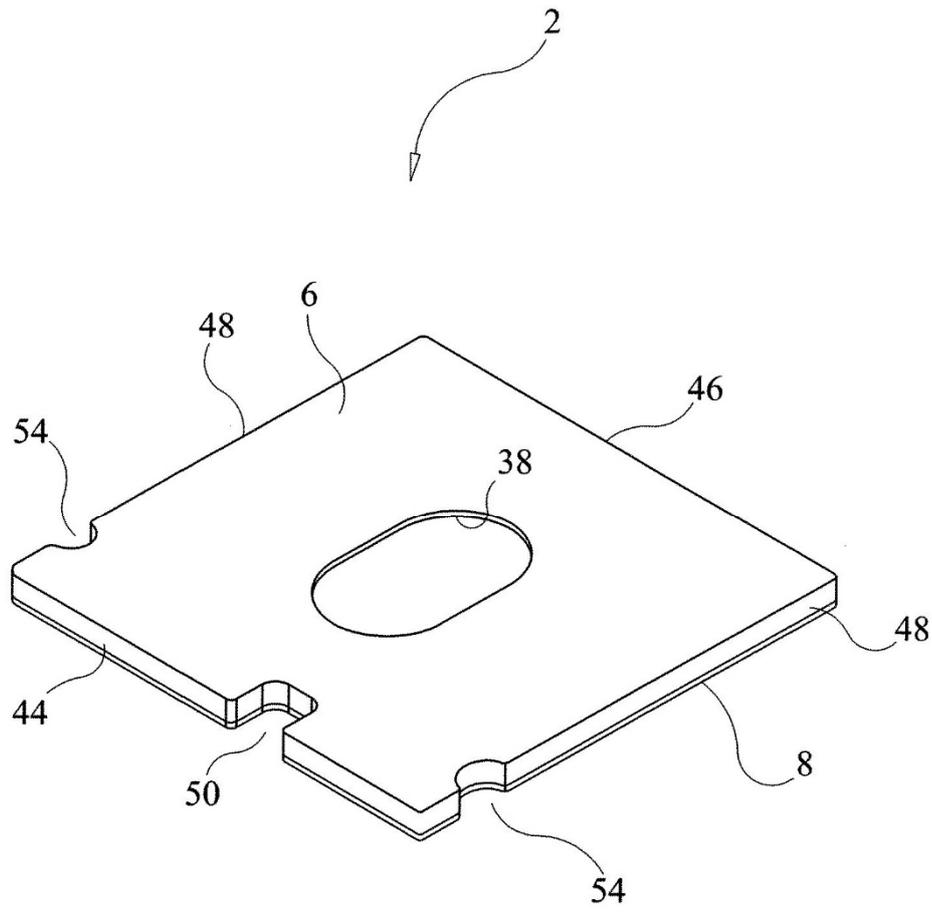


FIG. 12A

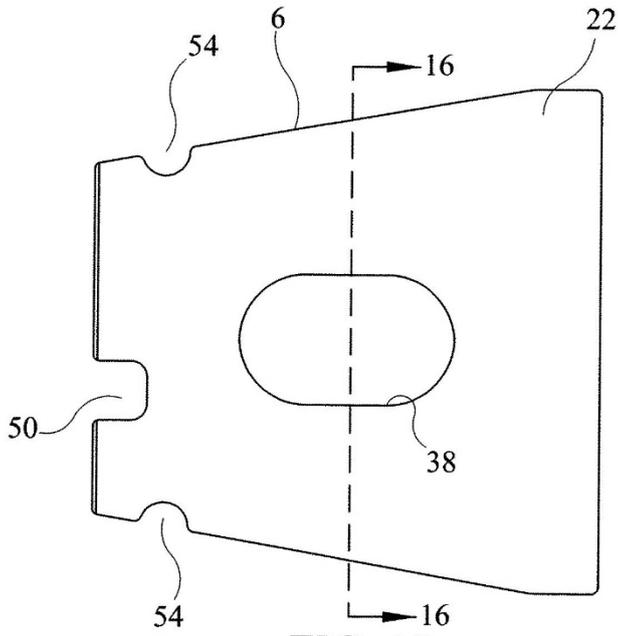


FIG. 13

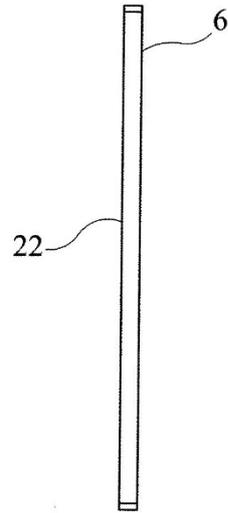


FIG. 15

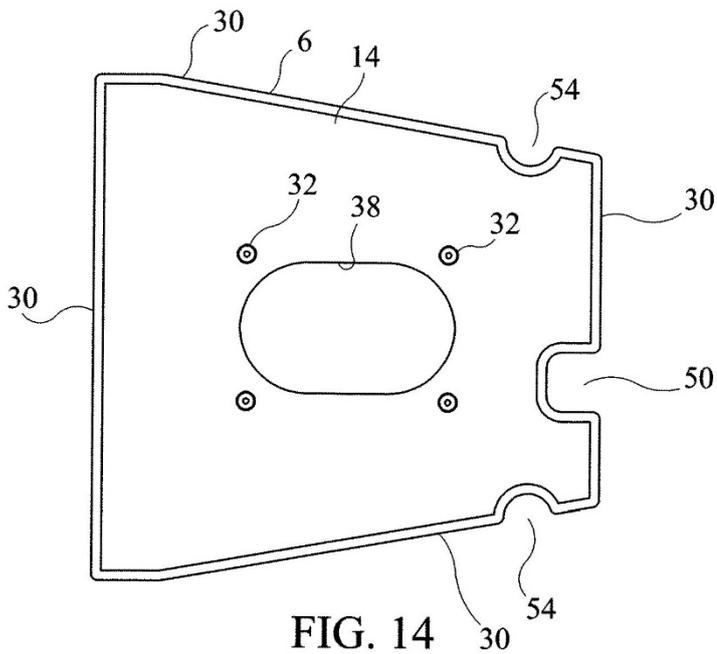


FIG. 14

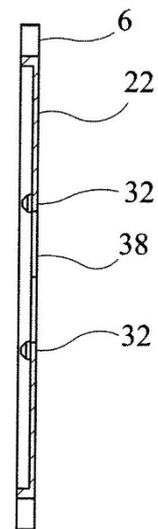


FIG. 16

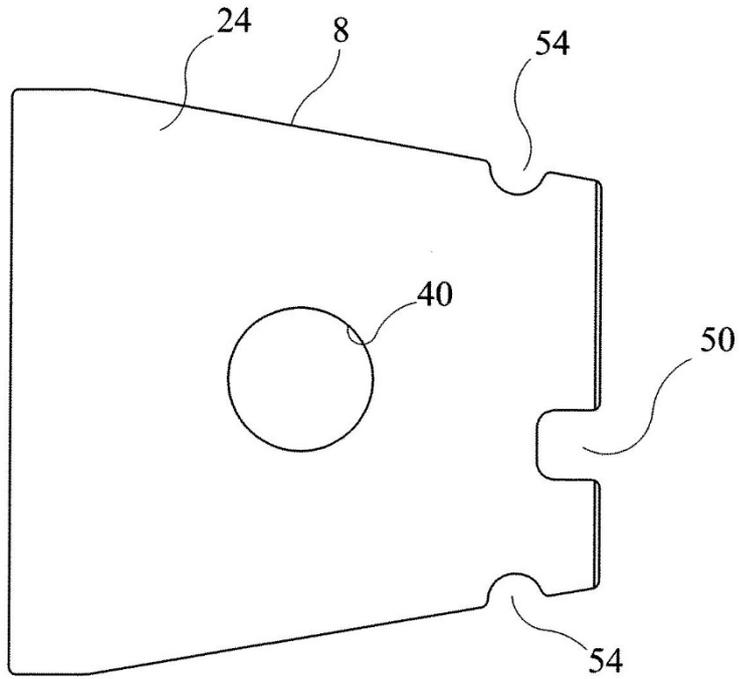


FIG. 17

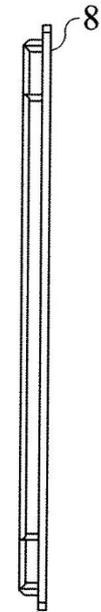


FIG. 19

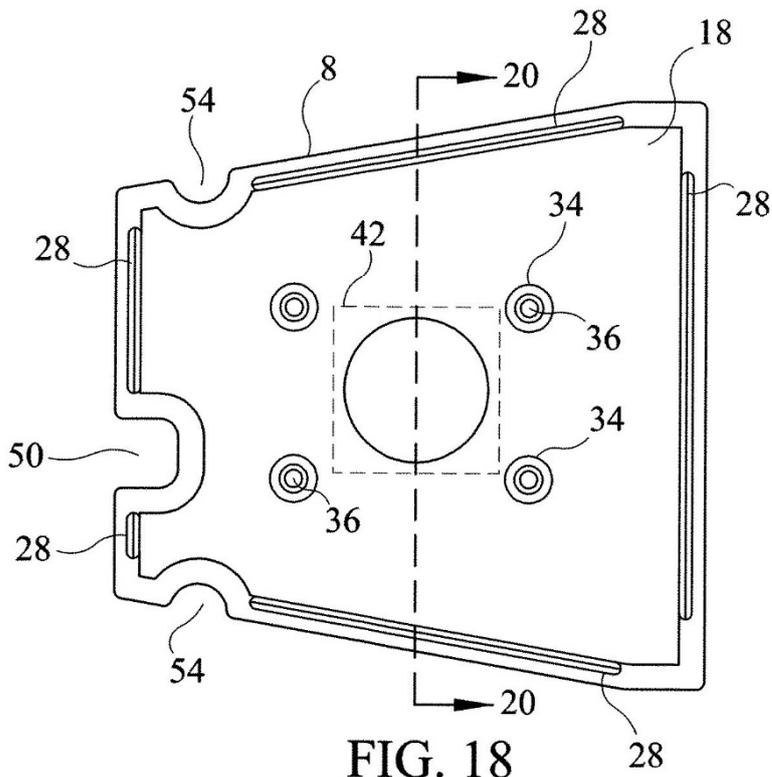


FIG. 18

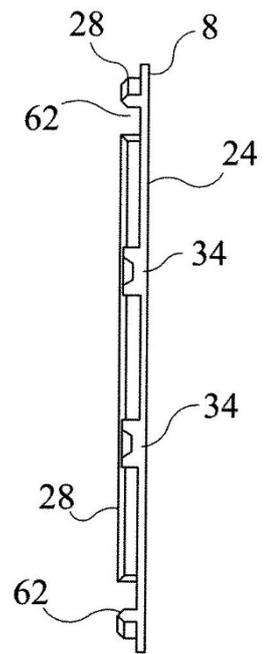
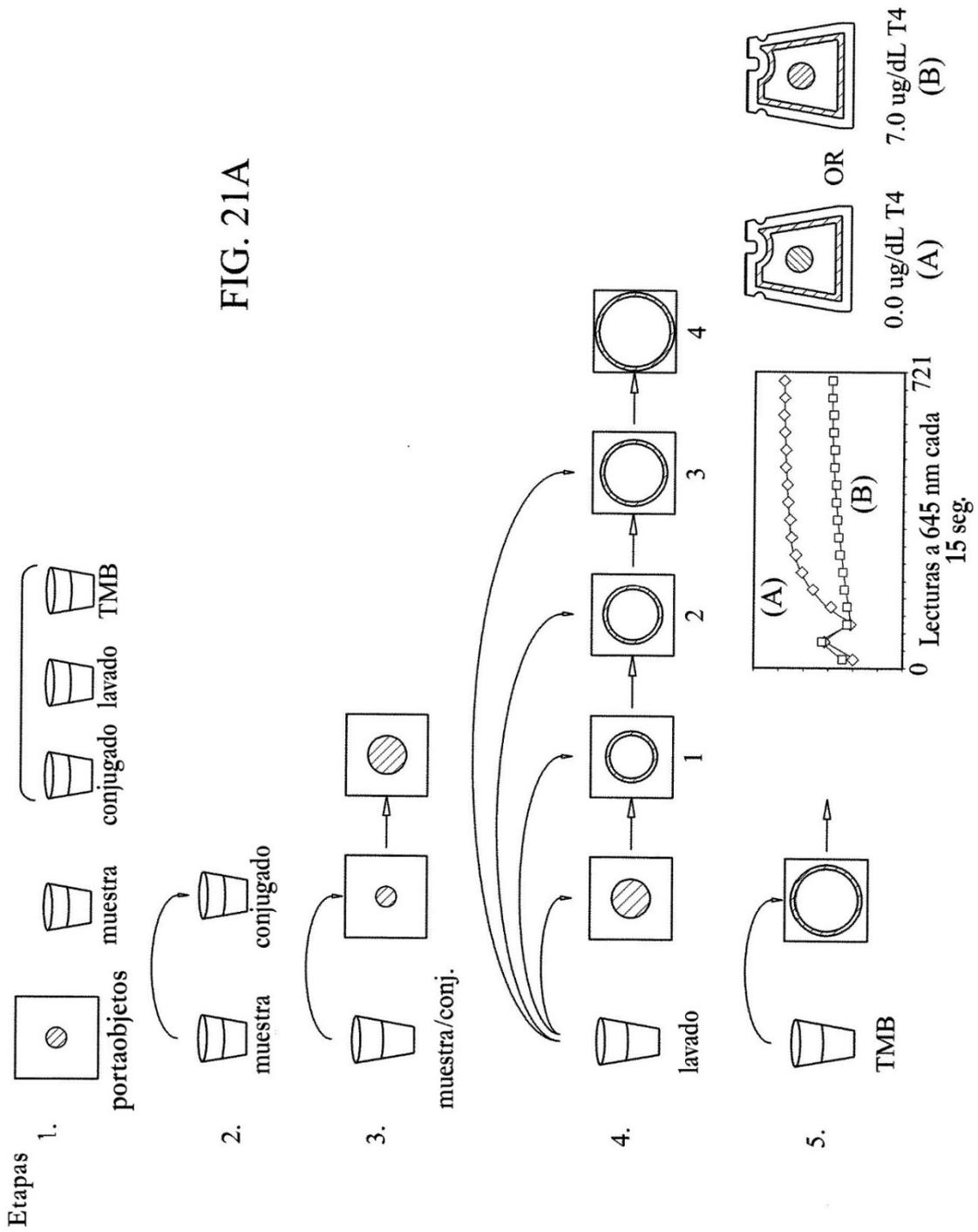


FIG. 20



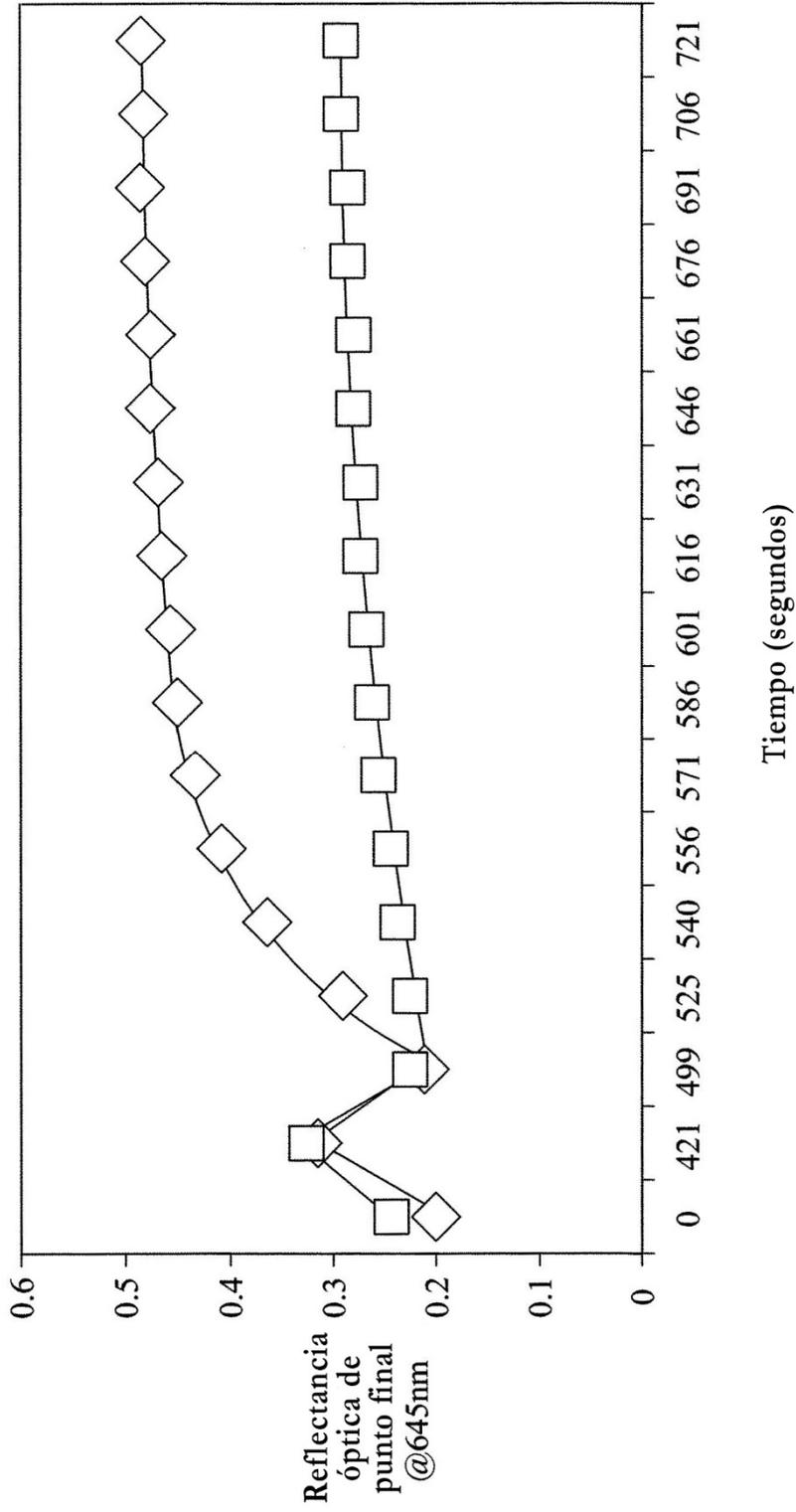


FIG. 21B

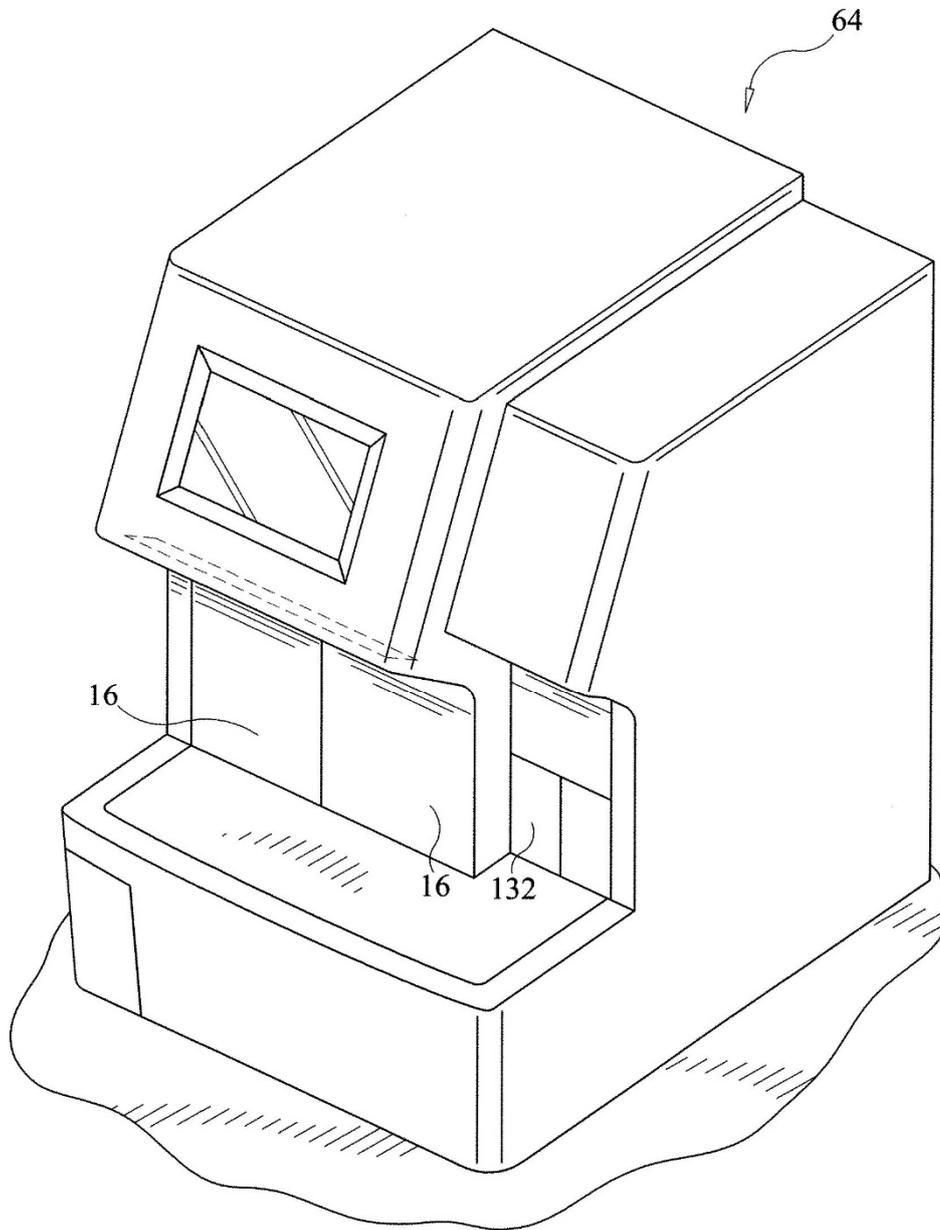


FIG. 22

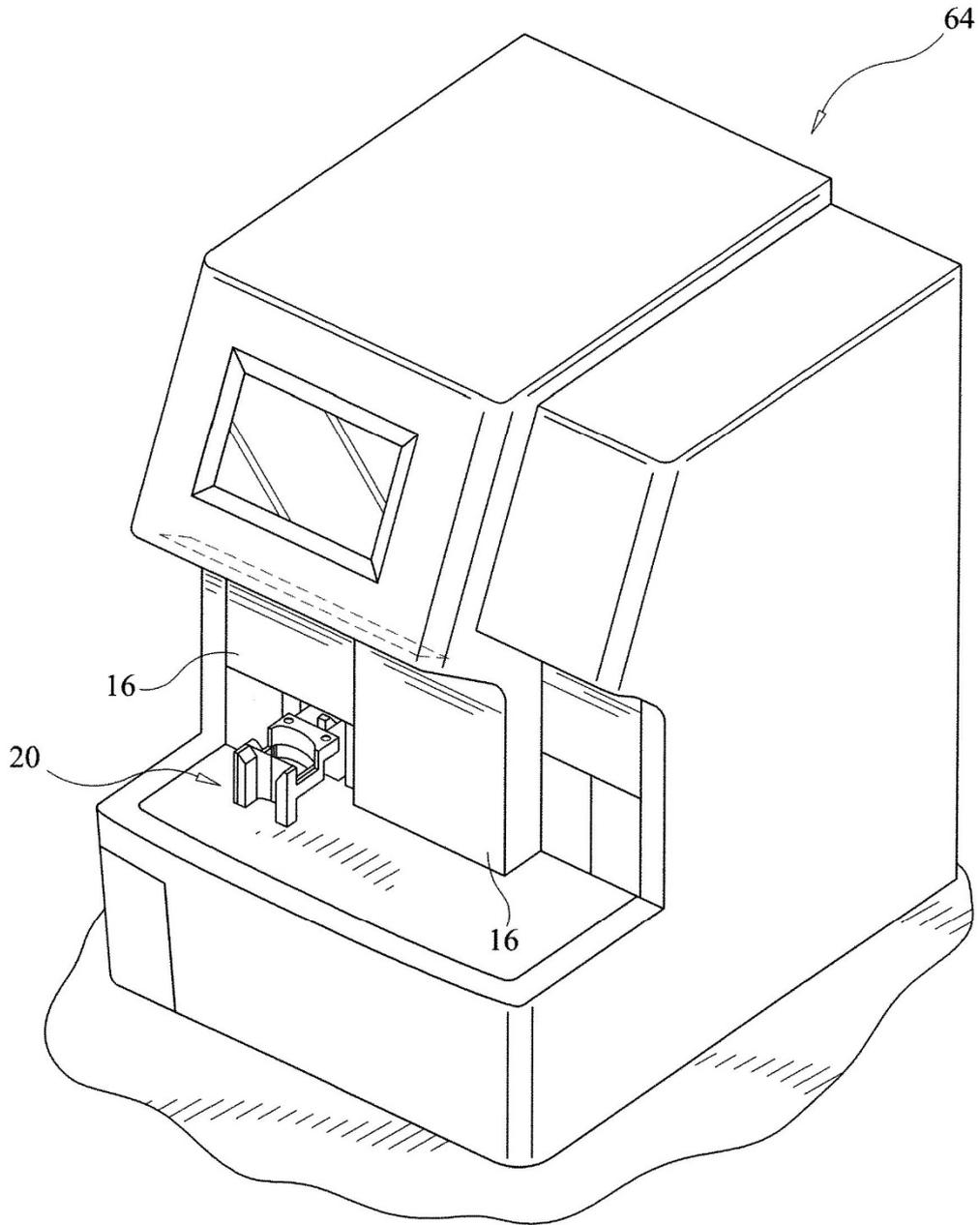


FIG. 23

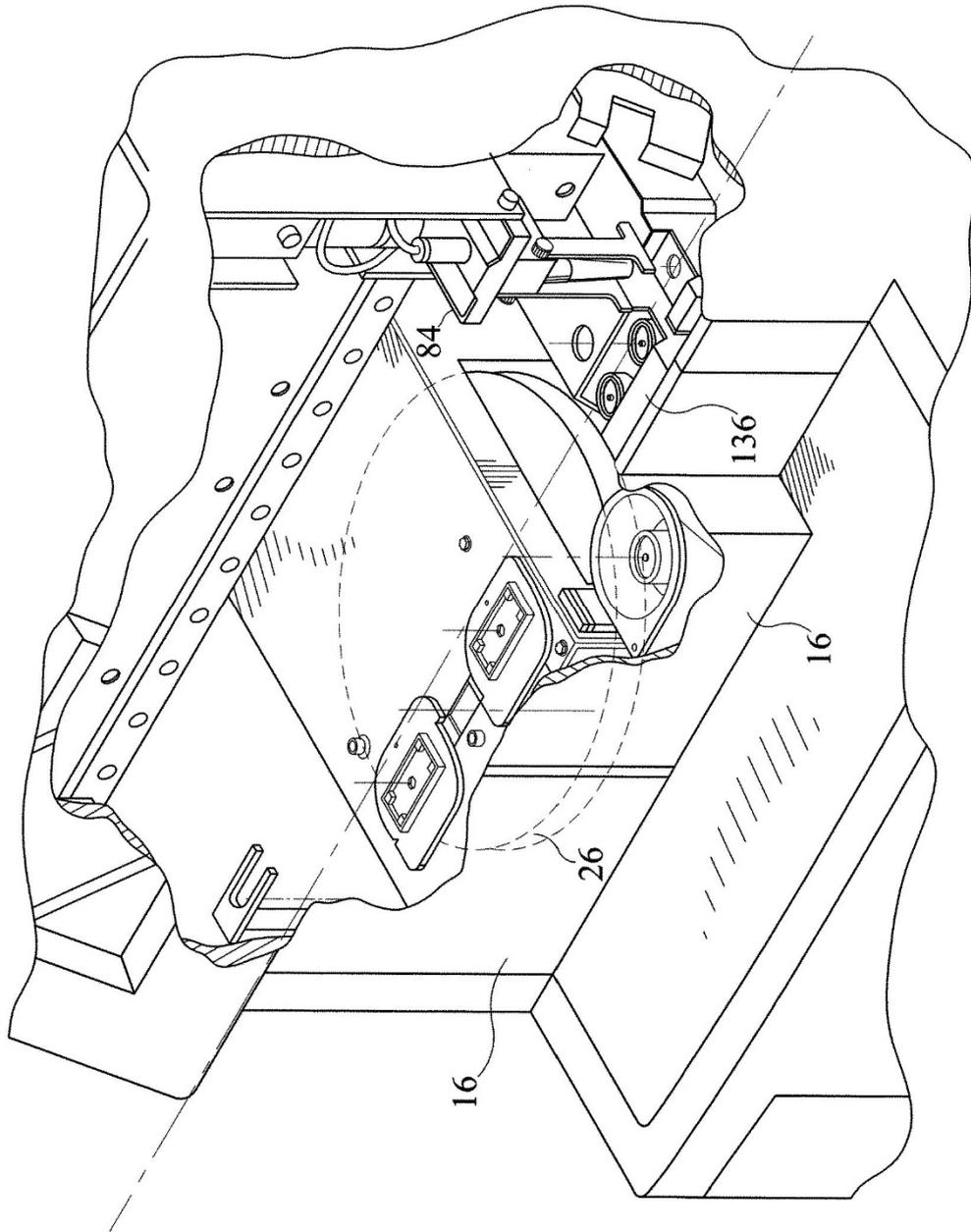
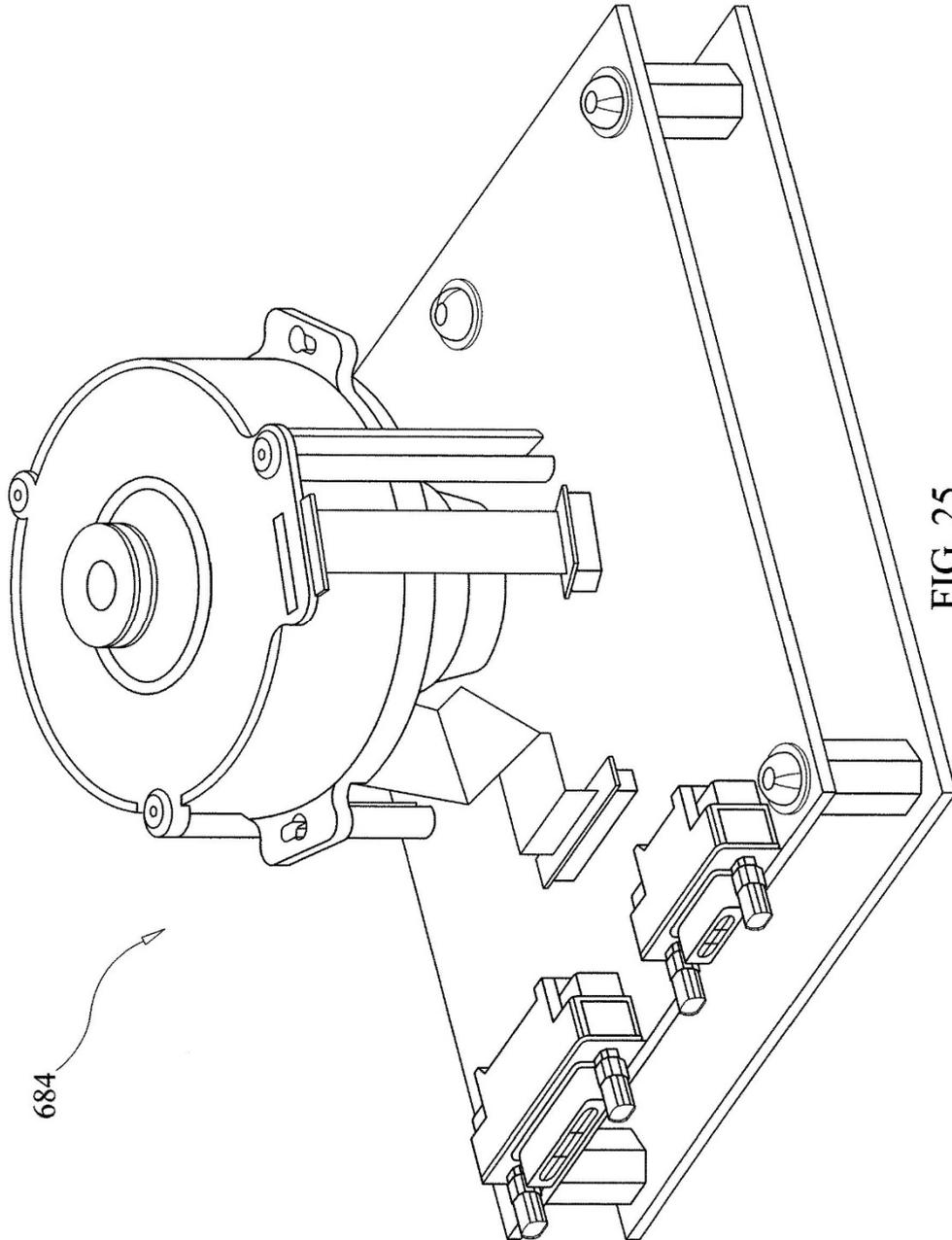


FIG. 24



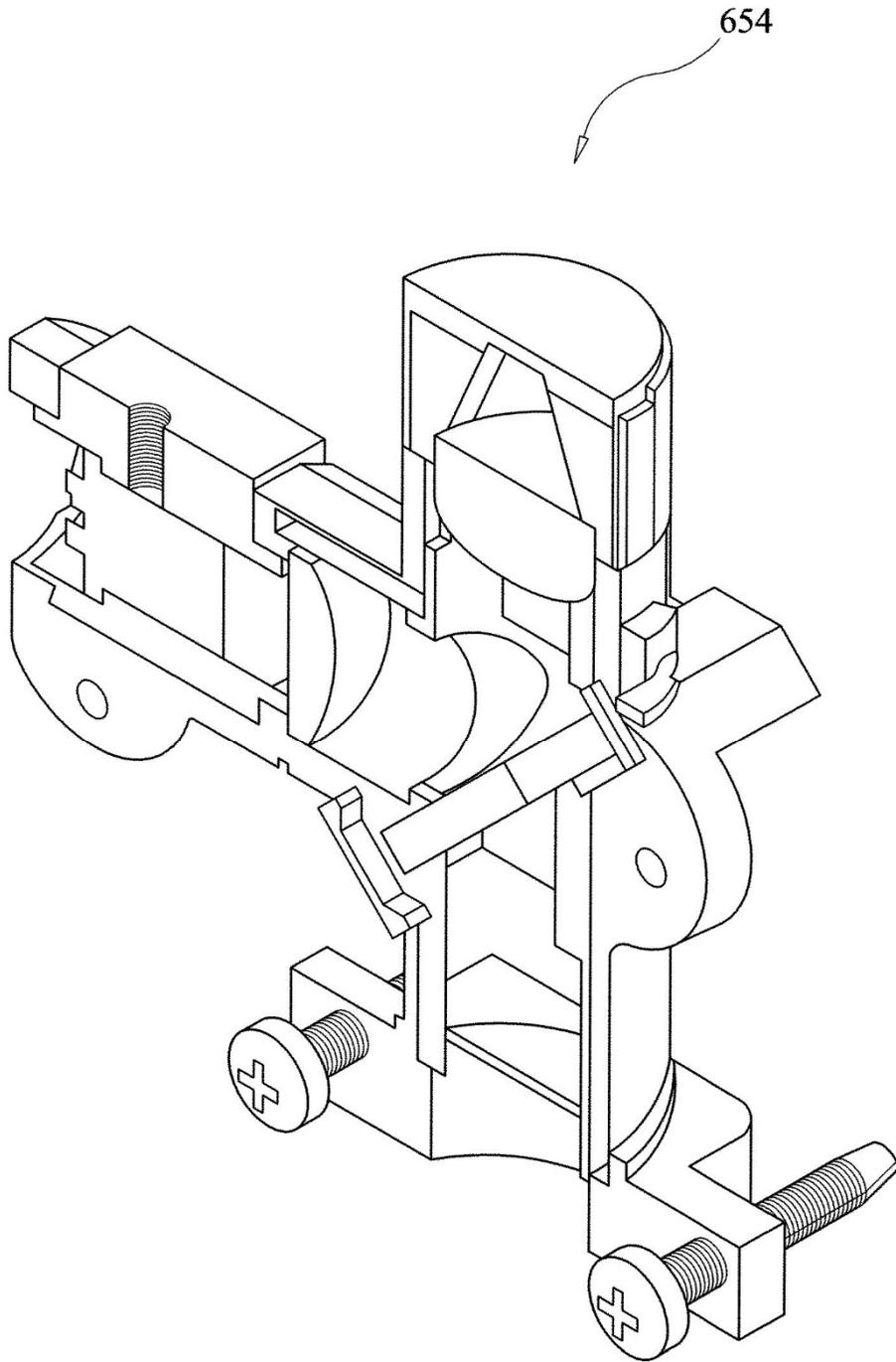


FIG. 26

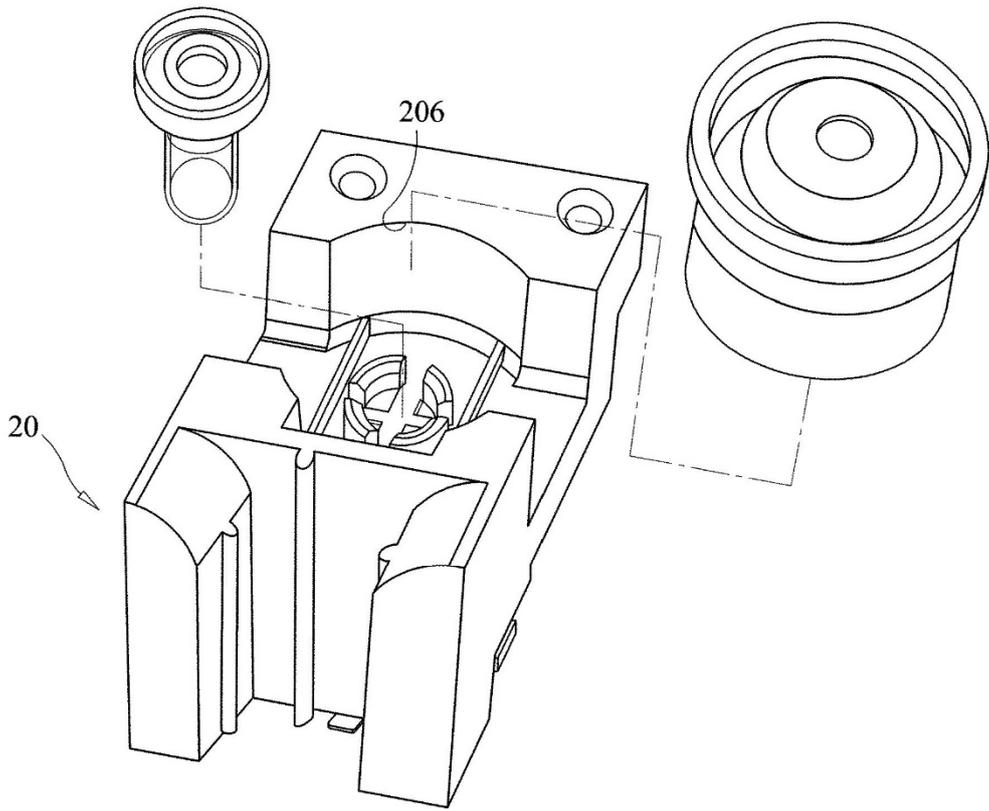


FIG. 27

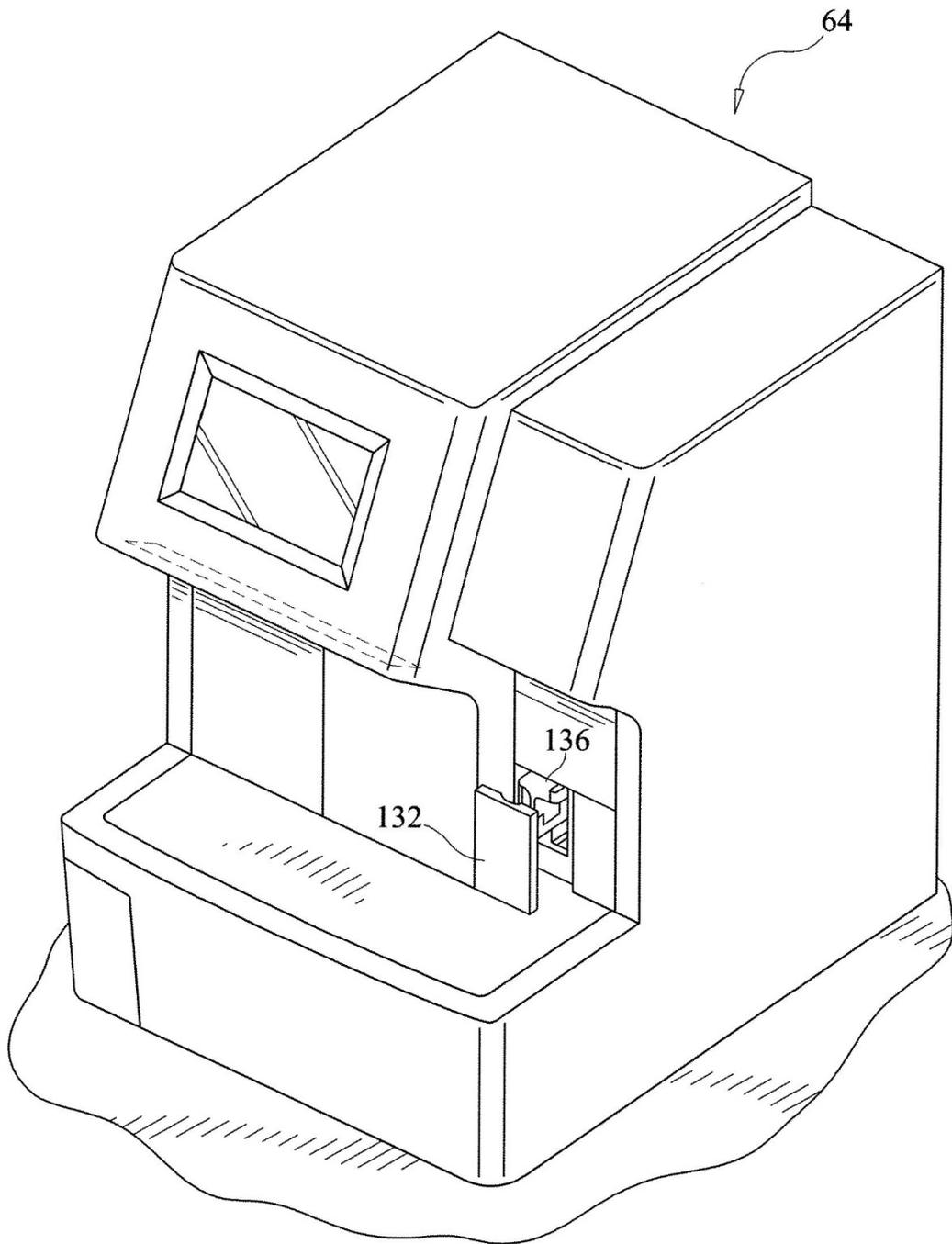


FIG. 28