

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 674 381**

51 Int. Cl.:

G01N 33/558 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2009 PCT/GB2009/001522**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2009 WO09153559**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2009 E 09766120 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2288921**

54 Título: **Dispositivo de detección**

30 Prioridad:

18.06.2008 GB 0811132

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

29.06.2018

73 Titular/es:

**THE SECRETARY OF STATE FOR DEFENCE
(100.0%)
DSTL Porton Down
Salisbury, Wiltshire SP4 0JQ, GB**

72 Inventor/es:

WHITE, PETER, JOHN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 674 381 T3

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

DESCRIPCIÓN

Dispositivo de detección

La presente invención se relaciona con los dispositivos para detectar un analito objetivo en una superficie, en particular dispositivos de flujo lateral, y los métodos de uso del mismo.

5 Los dispositivos de flujo lateral para la detección de un analito objetivo en una superficie comúnmente comprenden cuatro elementos o componente individuales: un recipiente que contiene un líquido, una pipeta una torunda y una tira reactiva de flujo lateral. El líquido es a menudo un tampón de baja fuerza iónica tal como 10nM de HEPES pH 7.5 o un tampón fosfato salino (PBS).

10 Las tiras reactivas de flujo lateral han sido plataformas populares para las pruebas de diagnóstico rápido desde su introducción a finales de la década de 1980, y se pueden aplicar a la detección específica de muchos analitos, especialmente antígenos o anticuerpos. Una tira reactiva de flujo lateral comprende un elemento de reconocimiento específico para un analito de interés. El elemento de reconocimiento es a menudo un anticuerpo. La detección del analito específico, a través del enlace al elemento de reconocimiento, es normalmente a través de la producción de un indicador visual, tal como una línea de color en la tira reactiva. Algunos dispositivos de flujo lateral permiten el análisis simultáneo de múltiples analitos. Las tiras reactivas de flujo lateral están basadas de manera cromatográfica en que el líquido que entra en contacto con los flujos de la tira reactiva a lo largo de la tira entren en contacto con el elemento de reconocimiento inmovilizado a través de la acción capilar. La tira reactiva puede comprender productos basados en papel, fibras de vidrio, nitrocelulosa o polipropileno. Las tiras reactivas también son conocidas como tiras reactivas inmuno-cromatográficas.

20 Las tiras reactivas de flujo lateral son simples de usar, relativamente baratas de fabricar, generalmente tiene una estabilidad a largo plazo sobre un amplio rango de condiciones, obtienen un resultado en un relativamente corto plazo de tiempo y son desechables. Estas características hacen a las tiras reactivas ideales para aplicaciones tales como las pruebas caseras, las pruebas rápidas en un punto de atención, y las pruebas para diversos analitos ambientales y agrícolas. Además, proporcionan pruebas fiables que en caso contrario no podrían estar disponibles en países en desarrollo. Las tiras reactivas de flujo lateral se han usado para el análisis de una multitud de muestras ambientales, tales como el análisis de la contaminación del agua y de enfermedades de plantas. El formato de flujo lateral es ideal para el análisis en ambientes hostiles.

30 La detección de un analito objetivo en una superficie normalmente requiere los pasos de inmersión de un hisopo en una solución tampón adecuada, limpiar la superficie, volver a realizar la inmersión del hisopo en la solución tampón, y aplicar una alícuota de la solución tampón a una tira reactiva de flujo lateral. La muestra procede a lo largo de la tira reactiva a través de la acción capilar después de que entre en contacto el elemento de reconocimiento, con la detección del analito objetivo normalmente a través de la producción de un indicador visual, tal como la producción de un color. Sin embargo, el requisito de usar cuatro elementos separados en un procedimiento de múltiples pasos puede introducir errores en el análisis, especialmente mediante la contaminación cruzada. Existe por lo tanto un requisito para reducir el número de elementos, y también el número de pasos requeridos en la detección de un analito objetivo ligado a una superficie. Una prueba basada en un elemento único, en cuya recogida, se integra la purificación y la detección, podría reducir de manera significativa la posibilidad de contaminación cruzada, de falsos positivos y falsos negativos, y aumentar la confianza del usuario.

40 La monitorización ambiental, especialmente la detección de contaminantes superficiales, presenta significativos retos tecnológicos. En concreto, los dispositivos y ensayos para monitorizar deberían ser amistosos y fiables para el usuario: el riesgo de error de usuario debería ser minimizado. En concreto, los dispositivos de flujo lateral que comprenden múltiples elementos (recipientes que contienen tampones, pipetas, un hisopo y al menos una tira reactiva de flujo lateral), y requieren varios pasos de manipulación son por naturaleza propensos al error de usuario. Estos dispositivos son también difíciles de usar mientras que se usa ropa de protección. Un dispositivo integrado de recogida y detección sin embargo podría superar estas limitaciones.

Los antecedentes de la técnica incluyen:

50 El documento US2005/0136553 que describe un sistema autónomo de diagnóstico basado en un hisopo que comprende un tronco que define al menos un canal de flujo entre los extremos del tronco, con un hisopo en un extremo para recoger una muestra de prueba, y una cámara de fluido configurada para contener un fluido que está en comunicación fluida con el hisopo a través del canal de flujo.

El documento GB2435832 que describe un dispositivo de mano de recogida y prueba con un brazo oscilante que es movable entre una configuración de recogida de muestras y una configuración de análisis de muestras.

55 El documento WO00/00288 describe un dispositivo para determinar un analito en una muestra líquida que comprende un miembro para recoger una muestra líquida montado de manera móvil o fija en un soporte de agarre, y los medios de difusión capilar que se extienden desde una zona recogiendo dicha muestra.

El documento WO95/08761 describe un formato de prueba analítica que tiene una parte de absorción que es móvil respecto a una estructura de soporte. La parte de recogida de dicho tapón está expuesta mediante el movimiento de la parte de recogida en relación con la estructura de soporte.

5 El documento WO00/57179 describe un dispositivo de prueba de diagnóstico para la recogida de una muestra de fluido, proporcionando un miembro de espuma absorbente sobre un mango, y una carcasa para la entrega de la muestra de fluido desde el miembro de espuma a una membrana de prueba.

El documento EP0734749 describe un proceso y un sistema para aislar un material biológico que comprende proporcionar el material biológico ligado a una matriz porosa compresible y comprimir la matriz de manera tal que el material biológico se libere de la superficie de la matriz en un líquido de elución.

10 El documento WO2009/036168 describe un único dispositivo autónomo para recoger, transferir, extraer y probar la presencia de un analito objetivo. El dispositivo incluye un hisopo y proporciona un fluido de elución para enjuagar el hisopo antes de probarlo no comprometiendo de este modo la química y permitiendo una amplia variedad de aplicaciones bajo condiciones de campo extremadamente calientes o frías.

15 La presente invención por tanto se dirige de manera general a proporcionar un dispositivo para detectar un analito objetivo sobre una superficie, en el cual se integran los elementos de recogida y detección, reduciendo así el número de pasos requeridos para el análisis, y en concreto eliminando el requisito de un paso separado de recogida.

20 Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un dispositivo para detectar un analito objetivo en una superficie que comprende un miembro femenino que tiene una primera región y una segunda región, un miembro masculino correspondiente acoplado dentro de la primera región del miembro femenino que es capaz del movimiento dentro del miembro femenino en respuesta a una fuerza aplicada, comprendiendo dicho miembro masculino los medios de detección del analito objetivo, y un material absorbente soportado dentro de la segunda región del miembro femenino que está al menos de manera parcial disponible externamente para entrar en contacto con la superficie y recoger el analito objetivo, en donde el miembro masculino es capaz de aplicar presión al material absorbente de manera tal que en la práctica la mayoría del fluido absorbido por el material absorbente se exprime desde el material absorbente y se queda en el dispositivo.

25 El miembro femenino define una cavidad, El miembro femenino de la presente invención tiene una cavidad dividida en dos regiones, una primera región y una segunda región, en donde las dos regiones son adecuadamente adyacentes la una con la otra a lo largo del eje de la cavidad. La primera región se sitúa en el extremo de la abertura o la entrada al miembro femenino y proporciona el acoplamiento del miembro masculino con el miembro femenino. La segunda región se sitúa por lo tanto en el extremo opuesto, esto es la base, del miembro femenino. El miembro femenino es preferiblemente cilíndrico, en donde la primera región y la segunda región son adyacentes la una con la otra a lo largo del eje cilíndrico del miembro femenino.

30 La comunicación del fluido absorbido por el material absorbente puede ser proporcionada teniendo los medios de detección en contacto o comunicación con el material absorbente, sin embargo el medio de detección está preferiblemente separado del material absorbente y se permite o se facilita la comunicación mediante el movimiento del miembro masculino dentro del miembro femenino.

35 El dispositivo se puede proporcionar sin el medio de detección del analito objetivo in situ, con el dispositivo comprendiendo sólo por tanto los medios capaces de soportar el medio de detección. El medio de detección se podría insertar entonces en el dispositivo después de que se haya emprendido el análisis. Esto permitiría que el dispositivo se vuelva a usar.

40 Como se usa en el presente documento, el medio de detección denota cualquier medio capaz de proporcionar una respuesta medible al analito objetivo tras entrar en contacto con el fluido que contiene el analito objetivo, preferiblemente a través del uso de un elemento de reconocimiento específico para el analito objetivo. La respuesta medible es preferiblemente un indicador visual, tal como la producción de un color a través de una reacción química. El medio de detección está preferiblemente basado en la cromatografía para facilitar el flujo del fluido que comprende el analito objetivo, y en una realización más preferida es una tira reactiva de flujo lateral. El medio de detección puede ser capaz de detectar múltiples analitos objetivos, y puede por ejemplo comprender múltiples tiras reactivas de flujo lateral.

45 Como se usa en la presente memoria, comunicar denota bien el contacto directo de una primera entidad con una segunda entidad, tal como el contacto directo del medio de detección con el material absorbente, o el contacto indirecto de una primera entidad con una segunda entidad, a través de por ejemplo una tercera entidad interviniente, tal como un material de filtración, en donde la primera entidad y la segunda entidad están cada una en contacto directo con la tercera entidad.

55 Como se usa en la presente memoria, separado denota que una primera entidad y una segunda entidad no están en comunicación o contacto la una con la otra.

5 El dispositivo se dirige principalmente para detectar un analito objetivo en una superficie, en donde el material absorbente que tiene un fluido absorbido en el material absorbente puede entrar en contacto con la superficie. Tanto la absorción de un fluido con el material absorbente, como el contacto del material absorbente con la superficie están proporcionados por el material absorbente que está al menos de manera parcial disponible externamente. El dispositivo se podría usar también para detectar analitos objetivos en un líquido, tal como un fluido corporal o aguas residuales contaminadas, en donde el contacto con el líquido es proporcionado por el material absorbente estando al menos de manera parcial disponible externamente.

10 El material absorbente soportado dentro de la segunda región del miembro femenino está al menos de manera parcial disponible externamente preferiblemente a través de un orificio o abertura proporcionada en el miembro femenino, generalmente en la base del miembro femenino. El material absorbente puede ser capaz de la rotación dentro de la segunda región del miembro femenino de modo que al contacto con una superficie se proporciona una recogida de muestras más uniforme. El material absorbente puede tener por ejemplo una forma esférica. Un material absorbente de forma esférica también proporciona un mejor contacto con superficies desiguales. En la práctica, el material absorbente del dispositivo puede estar en contacto con un fluido, de manera tal que el fluido sea absorbido con el material absorbente, a través del material absorbente que está al menos de manera parcial disponible externamente. El material absorbente puede entonces ser ubicado y/o movido sobre una superficie para recoger o absorber los analitos ligados a esa superficie. El fluido puede ser una solución tampón.

20 El miembro masculino es capaz de moverse dentro del miembro femenino en respuesta a una fuerza aplicada. En una realización preferida el miembro masculino es deslizable dentro del miembro femenino. En la práctica, este movimiento facilita la comunicación del fluido absorbido con el material absorbente con el medio de detección. El movimiento por ejemplo permite al medio de detección moverse desde una posición en la que está separado del material absorbente a una posición en la que se comunica con el material absorbente. De manera alternativa, el miembro masculino puede ser capaz de aplicar presión al material adsorbente de manera tal que el fluido se libere del material adsorbente y se quede en el dispositivo. El medio de detección se puede comunicar entonces con el fluido liberado. El miembro masculino puede estar sustancialmente hueco de manera tal que el medio de detección esté soportado dentro del miembro masculino. El miembro masculino puede ser capaz del movimiento independiente, tal como un deslizamiento, dentro del hueco del miembro masculino.

30 El medio de detección puede ser soportado por el miembro masculino de manera tal que el medio de detección sea capaz de moverse de manera independiente del miembro masculino, esto es, aplicar un fuerza al miembro masculino proporcionará el movimiento del miembro masculino y del medio de detección, sin embargo aplicar una fuerza al medio de detección proporcionará el movimiento sólo del medio de detección, y no el movimiento del miembro masculino. El miembro masculino es capaz preferiblemente de aplicar presión al material absorbente de manera tal que la mayoría (esto es más del 50%) de cualquier fluido absorbido se puede liberar o exprimir desde el material absorbente pero se queda en el dispositivo. Esto se puede conseguir haciendo que el miembro masculino tenga un orificio o abertura, o de hecho múltiples orificios o aberturas, situadas en la superficie del miembro masculino que sea capaz de comunicarse con el material absorbente que es mayor en área de superficie que la del orificio o la abertura en el miembro femenino del dispositivo. Al aplicar presión al material absorbido cualquier fluido absorbido en este se exprimirá desde el material absorbente y saldrá a través de la ruta de menos resistencia, esto es a través del orificio o la abertura de mayor área de superficie. El orificio en el miembro masculino es preferiblemente al menos el doble de área de superficie del orificio del miembro femenino. De manera alternativa, el dispositivo puede comprender además un tapón o tapa extraíble sobre el orificio o abertura en el miembro femenino. La tapa se puede por tanto extraer para permitir al material absorbente entrar en contacto con la superficie, y se puede volver a poner antes de aplicar presión con el miembro masculino, asegurando de este modo la retención del fluido en el dispositivo. La tapa proporcionará en general un sello hermético.

45 Un método de uso del primer aspecto comprende recoger o absorber analitos ligados a la superficie con el material absorbente y después contactar o comunicar el medio de detección con bien el material absorbente que contiene al fluido absorbido, o con el fluido liberado desde el material absorbente, en donde el fluido absorbido es exprimido del material absorbente mediante la aplicación de presión con el miembro masculino de manera tal que la mayoría del fluido liberado se quede en el dispositivo. El medio de detección se pone en contacto o se comunica entonces con el fluido liberado bien de manera automática, o a través del movimiento del medio de detección para entrar en contacto con el fluido.

55 La presente invención integra los elementos de recogida y detección en los dispositivos para detectar analitos objetivos ligados a la superficie. Los dispositivos permiten que el número de pasos requeridos para el análisis sean reducidos sobre los de la técnica, y en concreto eliminan el requisito de un paso separado de recogida. Los dispositivos proporcionan un mejor manejo, una mejor contención, una probabilidad reducida de contaminación cruzada, una menor posibilidad de error, y una mayor fiabilidad. Los dispositivos son contenidos de manera potencialmente forense, reduciendo o incluso erradicando el potencial de contaminación cruzada.

60 Los dispositivos son particularmente útiles para detectar un material biológico objetivo o una contaminación en una superficie. El materia biológico objetivo puede ser una bacteria, incluyendo esporas, hongos, virus, células vegetales, células de insectos, células mamíferas y constituyentes celulares tales como las proteínas, los lípidos, los carbohidratos y los polinucleótidos. El contaminante puede ser de manera alternativa un material químico tal como

un pesticida, explosivo o fármacos. Por ejemplo, el dispositivo puede facilitar una prueba puntual para un fármaco, o una detección basada en anticuerpos de un explosivo como es conocido en la técnica.

5 Los dispositivos requieren una mínima manipulación y pueden ser usados más fácilmente por personal que vistan ropas de protección que los dispositivos actuales. Dichos dispositivos requerirían también un mínimo entrenamiento y serían más simples de usar que los dispositivos actuales en ambientes potencialmente contaminados. La facilidad de uso aumentaría también la confianza del usuario en el resultado de la prueba y reduciría el estrés del operador en situaciones donde se sospeche de contaminación. El dispositivo podría ser un único dispositivo desechable integrado.

10 El medio de detección se puede quitar del dispositivo para permitir la consulta de la respuesta medible o del indicador visual. En una realización preferida sin embargo el dispositivo es transparente (esto es se fabrican de un material transparente) o comprende una ventana para permitir la inspección visual de cualquier indicación visual de un resultado positivo y/o negativo producido por el medio de detección. La ventana puede comprender además una propiedad de ampliación para ayudar a la inspección visual de cualquier indicador visual.

15 Los dispositivos pueden comprender además un material de filtro o una capa de filtro situada entre el material absorbente y el medio de detección. El material de filtro puede entrar en contacto bien con el material absorbente o con el medio de detección, sin embargo el material de filtro o la capa de filtro está preferiblemente en contacto con el material absorbente, y preferiblemente separado del medio de detección y, donde fuera aplicable, separado del miembro masculino. El material de filtro o la capa de filtro pueden evitar que impurezas en partículas, tales como el polvo, entren en contacto con el medio de detección, y pueden evitar especialmente impurezas que puedan interferir con la prueba o con la función del elemento de reconocimiento en la tira reactiva del flujo lateral. La capa de filtro puede ser por ejemplo una membrana de nylon. En una realización del primer aspecto, el medio de detección puede ser capaz de comunicarse con el material absorbente a través del material de filtro, o de manera alternativa el miembro masculino puede ser capaz de aplicar presión al material absorbente mediante la aplicación de presión al material de filtro.

25 Los dispositivos pueden comprender los medios para almacenar un fluido separado del material absorbente pero dispuesto de manera tal que el fluido sea capaz de estar en contacto con, y ser absorbido por, el material absorbente antes de usar el dispositivo para la detección de un analito objetivo ligado a una superficie. Por ejemplo, el fluido se puede almacenar en una tapa o tapón extraíble sobre el orificio o la abertura en el miembro femenino. En una realización preferida sin embargo el fluido es absorbido por el material absorbente, esto es el material absorbente es prehumedecido. El fluido es preferiblemente una solución tampón, tal como para proporcionar las condiciones adecuadas para enlazar el analito objetivo con un elemento de reconocimiento en una tira reactiva de flujo lateral. La solución tampón puede ser un tampón HEPES que contiene un detergente. El material absorbente prehumedecido elimina cualquier requisito de poner en contacto el dispositivo con un fluido separado o solución tampón antes del análisis, y por tanto reduce más la probabilidad de contaminación cruzada y los resultados falsos positivos o negativos. Esto también reduce la posibilidad de error al usuario. En esta realización del dispositivo el medio de detección debe estar separado del material absorbente. El material absorbente puede ser de un material tal como una esponja

40 Un dispositivo que comprende un material absorbente prehumedecido puede comprender además los medios para evitar la pérdida o la evaporación del fluido del material absorbente, especialmente durante el almacenamiento del dispositivo. Dichos medios pueden comprender el uso de uno o más sellos de aluminio herméticos. Los sellos de aluminio se pueden quitar antes de usar el dispositivo, o de manera alternativa se pueden cortar o perforar antes del uso.

45 En un segundo aspecto, la presente invención proporciona un método para detectar un analito objetivo en una superficie que comprende los pasos de proporcionar un dispositivo del primer aspecto que tenga un fluido absorbido con el material absorbente, poner en contacto el material absorbente del dispositivo con la superficie, comunicar el fluido con el medio de detección, y detectar el analito objetivo a través de una respuesta medible proporcionada por el medio de detección.

50 El material absorbente es preferiblemente prehumedecido con el fluido. Sin embargo, si el material absorbente no se prehumedece entonces el fluido debería ser absorbido con el material absorbente del dispositivo antes de poner en contacto el material absorbente con la superficie.

55 La comunicación del fluido con el medio de detección se puede lograr en el dispositivo del primer aspecto aplicando una fuerza al miembro masculino y/o al medio de detección de manera tal que el medio de detección se comunique con el material absorbente, y de este modo con el fluido absorbido, o de manera alternativa aplicando una fuerza al miembro masculino de manera tal que el miembro masculino se comunique y aplique presión al material absorbente para liberar el fluido absorbido en el dispositivo. El medio de detección puede de este modo estar comunicado con el fluido liberado bien de manera automática o mediante el movimiento del medio de detección.

Los dispositivos de la presente aplicación permiten la recogida integrada, el procesamiento y la detección de muestras. La recogida es a través de un material absorbente tal como una esponja natural o sintética, que se moja

preferiblemente con un fluido. Se puede usar la succión o compresión para facilitar la comunicación del fluido, que potencialmente contiene el analito objetivo, con el medio de detección. Un filtro permite el procesamiento de muestras y en particular la eliminación de impurezas, tales como material en partículas, antes de la comunicación del fluido con el medio de detección. Funcionalidades adicionales se pueden incorporar en el filtro, o a través de membranas funcionales adicionales, para separar, eliminar o seleccionar analitos/impurezas en base de la carga, hidrofobicidad, tamaño u otras propiedades biofísicas.

La presente invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos y dibujos no limitantes en los que

La Figura 1 muestra una realización del dispositivo del primer aspecto que comprende un miembro femenino y el correspondiente miembro masculino que es capaz de detectar un analito objetivo.

Las Figuras 2 a), b), c) y d) ilustran el proceso de detección de un analito objetivo con el dispositivo de la Figura 1,

La Figura 3 muestra un dispositivo en donde se puede aplicar succión para permitir la detección de un analito objetivo.

La Figura 4 muestra una realización del dispositivo del primer aspecto en donde el material absorbente se puede comprimir mediante el miembro masculino para facilitar la detección de un analito objetivo. El dispositivo está basado en el diseño de una jeringuilla en donde el miembro masculino es el émbolo de la jeringuilla.

La Figura 5 muestra una vista en planta despiezada de miembro masculino/émbolo del dispositivo de la Figura 4.

Ejemplos

Ejemplo 1

Referente ahora a la Figura 1, el dispositivo 1 comprende un recipiente (miembro femenino) 2 que contiene un material 3 absorbente, un material 5 de filtración, y un miembro 4 masculino para soportar uno o más medios de detección, tales como las tiras 6 reactivas de flujo lateral. El material 3 absorbente se sitúa en un extremo, esto es, la parte inferior, del recipiente 2, y está disponible de manera tal que entra en contacto con una superficie a través de una abertura dentro de la parte inferior de 2. Se puede preabsorber un fluido con el material absorbente. El material 5 de filtración está en contacto con la superficie superior del material 3 absorbente. El miembro 4 masculino se sitúa dentro del recipiente 2 de manera tal que no esté en contacto con el material 5 de filtración, sin embargo el miembro 4 masculino se dispone de manera móvil dentro del recipiente 2, de manera tal que pueda entrar en contacto con el material 5 de filtración en respuesta a una fuerza, tal que pueda ser ejercida por un dedo o una mano del usuario del dispositivo. El miembro masculino 4 está disponible por lo tanto al usuario del dispositivo a través de una abertura en la parte superior del recipiente. Las tiras 6 reactivas de flujo lateral están soportadas por el miembro masculino 4 de manera tal que las tiras 6 reactivas puedan también entrar en contacto con el material 5 de filtración en respuesta a una fuerza ejercida en el miembro 4 masculino.

Referente ahora a las Figuras 2 a), b), c) y d), el dispositivo 1 de la figura 1 se puede poner en contacto con una superficie 7 que contiene un analito 8 objetivo y partículas 9 (Figura 2a). Tras el contacto con la superficie, el material 3 absorbente, que tiene un fluido (tampón) absorbido en este, recoge o absorbe tanto el analito 8 objetivo como las partículas 9 (Figura 2b)). Mediante la aplicación de una fuerza hacia abajo al miembro 4 masculino las tiras 6 reactivas de flujo lateral se pueden comunicar con el material 3 absorbente, a través del material 5 de filtración. De manera alternativa mediante la aplicación de una fuerza hacia abajo al miembro 4 masculino se aplica una presión al material 3 absorbente, a través del material 5 de filtración, para liberar el fluido absorbido desde el material 3 absorbente. El miembro 4 masculino puede tener una abertura o un orificio situado en su parte inferior, esto es la superficie del miembro 4 masculino que entra en contacto con el material 5 de filtración, que es mayor en área de superficie que la abertura en el recipiente 2 para que tras la aplicación de la presión al material 3 absorbente el fluido se quede en el recipiente 2, en lugar de ser disipado del recipiente 2. El fluido liberado puede entonces entrar en contacto con las tiras 6 reactivas de flujo lateral. El material 5 de filtración permite el paso del analito 8 objetivo, disuelto suspendido en el fluido (tampón), de manera tal que esté disponible para entrar en contacto con las tiras 6 reactivas, pero evita el paso de las partículas 9 (Figura 2c). El analito 8 objetivo, en el fluido (tampón), entonces procede a lo largo de las tiras 6 reactivas mediante la acción capilar, tras la cual puede darse una banda coloreada en la tira reactiva, que denota un resultado positivo o negativo, (Figura 2d).

Ejemplo 2

Referente ahora a la Figura 3, el dispositivo 1 comprende un recipiente 2 que contiene un material 3 absorbente, un material 5 de filtración, y unos medios 4 para soportar el medio de detección, tal como unas tiras 6 reactivas de flujo lateral. El material 3 absorbente se sitúa en un extremo, esto es la parte inferior, del recipiente 2, y está disponible para entrar en contacto con la superficie. El recipiente 2 comprende una abertura para conectar la tetina 13 de un 'succionador de pipeta' 12 al dispositivo 1, de manera tal que en uso el 'succionador de pipeta' 12 puede proporcionar succión al dispositivo 1. El recipiente 2 también tiene un pequeño orificio 14 entre el material 5 de filtración y el material 3 absorbente, y contiene uno o más sellos 11 de manera que se pueda proporcionar la succión de manera eficiente. El estrechamiento 15 del recipiente 2 desde el material 3 absorbente hacia el pequeño orificio

14 puede mejorar más la recogida de líquido desde la superficie. En la práctica, el material 3 absorbente que tiene un fluido absorbido en este puede tomar un analito objetivo desde una superficie seca, y después proporcionando succión con un 'succionador de pipeta' 12 el fluido se succionará a través de un pequeño orificio 14, a través del material 5 de filtración y comunicarse con la tira 6 reactiva de flujo lateral.

5 Ejemplo 3

Referente ahora a la Figura 4 y la Figura 5, el dispositivo 1 comprende un miembro 2 femenino que contiene un material 3 absorbente, y un miembro 4 masculino que soporta al menos una tira reactiva de flujo lateral. El material 3 absorbente se sitúa en un extremo, esto es la parte inferior o base, del miembro 2 femenino, y está disponible para entrar en contacto con la superficie a través de una abertura dentro de la parte inferior de 2. El fluido se puede preabsorber con el material absorbente. El dispositivo está basado en el diseño de una jeringuilla en donde el miembro masculino es un émbolo. El miembro masculino es capaz por tanto de moverse dentro del miembro femenino de manera tal que pueda entrar en contacto con el material absorbente, y aplicar compresión al material absorbente, La cabeza 16 del émbolo comprende unos orificios 18, y el dispositivo 1 comprende una tapa 17 capaz de sellar la abertura en la base del miembro 2 femenino. Así, acoplando una tapa 17 al dispositivo, y aplicando presión al material absorbente con el miembro 4 masculino, cualquier fluido absorbido con el material absorbente será forzado a través de los orificios 18 en la cabeza 16 del émbolo para entrar en contacto con las tiras 6 reactivas de flujo lateral.

Ejemplo 4 – Recuperación de luciferasa de luciérnaga de una superficie

La eficiencia y recuperación de una proteína soluble (luciferasa de luciérnaga) desde una superficie con el dispositivo de la Figura 3 fue evaluada. La solución salina tamponada con fosfato (1µl) que contiene 5 ng o 8.1×10^6 RLU de luciferasa de luciérnaga fue pipeteado en una superficie. El material 3 absorbente (esponja recogedora) fue prehumedecido con un tampón que contiene 10nM HEPES pH 7.5 y 0.005 % (v/v) de Tween 80. El material absorbente fue puesto en contacto y movido sobre la superficie mientras que se aplicaba succión a través del 'succionador de pipeta' para recoger la proteína. El volumen de líquido succionado en el dispositivo estuvo entre 2 y 3 ml. Una alícuota de este líquido fue atacada después en busca de actividad luciferasa. El experimento fue repetido seis veces. La recuperación de la luciferasa de luciérnaga desde la superficie estuvo entre un 16 y un 38 % de recuperación calculada usando un análisis basado en luminiscencia.

Tabla 1. Recuperación de luciferasa de luciérnaga de una superficie con el dispositivo de la Figura 3.

Experimento	Volumen de tampón recuperado (ml)	RLU totales recuperados	Actividad enzimática recuperada (%)
1	3.0	1.5×10^6	18
2	2.5	3.1×10^6	38
3	2.5	1.0×10^6	12
4	3.0	2.7×10^6	33
5	2.5	2.0×10^6	25
6	2.5	1.3×10^6	16

30 Ejemplo 5 – Recuperación de partículas de una superficie con el dispositivo de la Figura 3

La capacidad del dispositivo de la Figura 3 para recoger las partículas desde la superficie fue evaluada usando cuentas de látex. Una solución (10 µl) de cuentas de látex teñidas de azul profundo con cuentas de un diámetro medio de 0.8 µm (Sigma L1398) fueron pipeteadas en la superficie. El material 3 absorbente (esponja recogedora) fue prehumedecido con un tampón que contiene 10 mM HEPES pH 7.5 y 0.005% (v/v) Tween 80. El material absorbente fue puesto en contacto y movido sobre la superficie mientras que se aplicó succión a través del "succionador de pipeta" para recoger las partículas. El tampón recogido fue centrifugado. Mediante examinación visual se estimó que aproximadamente el 50 % de las partículas de látex fueron recuperadas de la superficie.

Ejemplo 6 – Detección de ovoalbúmina de una superficie plástica con el dispositivo de la Figura 3

Ovoalbúmina (1 µl) en una concentración de 1mg/ml o 0.1 mg/ml fue pipeteada en una superficie plástica, depositando así 1 µg o 100 ng de proteína, respectivamente. El material 3 absorbente (esponja de recogida) fue prehumedecido con un tampón que contenía 10mM HEPES 7.5 y 0.005% (v/v) Tween 80. El material absorbente fue puesto en contacto y movido sobre la superficie mientras que se aplicó succión para recoger la proteína. El fluido absorbido con la capa absorbente fue comunicado con una tira reactiva de anticuerpos soportada dentro del

dispositivo. La tira reactiva de anticuerpos era específica para la ovoalbúmina, y producía un detectable resultado positivo (a ojo) para ambas concentraciones de ovoalbúmina investigadas.

Ejemplo 7 – Detección de esporas de *Bacillus globigii* de una superficie plástica con el dispositivo de la Figura 3

5 Una suspensión (1 µl; 5 x 10⁶ cfu total) de esporas de *Bacillus globigii* fue pipeteada en una superficie plástica. El material 3 absorbente (esponja de recogida) fue prehumedecido con un tampón que contenía 10mM HEPES 7.5 y 0.005% (v/v) Tween 80. El material absorbente fue puesto en contacto y movido sobre la superficie mientras que se aplicó succión para recoger la proteína. El fluido absorbido con la capa absorbente fue comunicado con una tira reactiva de anticuerpos soportada dentro del dispositivo. La tira reactiva de anticuerpos era específica para *Bacillus globigii*, y producía un detectable resultado positivo (a ojo).

10 Ejemplo 8 – Comparación del dispositivo de compresión de las Figuras 4 y 5 con un kit de prueba de flujo lateral que usa muestreo y recogida mediante hisopo de algodón

15 Se llevaron a cabo una serie de experimentos en superficies de laminado de madera y metal contaminadas con ovoalbúmina (50, 100 y 1000 ng) o una suspensión de esporas *B. atrophaeus* (comúnmente llamadas esporas BG; 1x10⁴, 1x10⁵ y 1x10⁶) como analito objetivo secado en las superficies antes del análisis. El área de muestra de la superficie para el dispositivo de compresión era de 49 cm², y para el bastoncillo de algodón fue de 1.76 cm². Las muestras duplicadas para cada cantidad de analito objetivo fueron recogidas mediante ambos métodos de ambas superficies y analizadas bien de manera convencional o a través del uso del dispositivo de compresión. Un experimento adicional utilizó el dispositivo de compresión que comprende dos tiras reactivas de flujo lateral, una específica de ovoalbúmina y la otra de BG, para tomar muestras de una superficie de madera laminada que
20 comprende 1 µg de ovoalbúmina y 1x10⁶ esporas BG. Las muestras fueron recogidas en un tampón de 10mM HEPES (pH 7.5) que contiene 0.005% (v/v) Tween 80. Las tiras reactivas de flujo lateral fueron evaluadas a ojo, grabadas usando una cámara digital, y asignadas a una calificación positiva (+) en base a la intensidad de la línea roja desarrollada.

25 Tabla 2. Recuperación de ovoalbúmina y esporas BG de superficies de madera laminado y metal usando el dispositivo de compresión de las Figuras 4 y 5. Intensidad de la línea desarrollada de la tira reactiva: ++++ alta intensidad; ++ intensidad media, + baja intensidad; no detectada.

	Respuesta en la Tira Reactiva	
	superficie de metal	superficie laminada de madera
ovoalbúmina		
50ng	++++	++++
100ng	++++	++++
1ug	++++	++++
esporas BG		
1x10 ⁶	++	++
1x10 ⁵	+	+
1x10 ⁴	-	-
esporas BG + ovoalbúmina		
1x10 ⁶ + 1ug		++ (esporas BG) +++ (ovoalbúmina)

30 Tabla 3. Recuperación de ovoalbúmina y esporas BG de superficies de madera laminada y metal usando un kit de prueba de flujo lateral convencional con obtención de muestras por hisopo de algodón Intensidad de la línea desarrollada de la tira reactiva: +++ alta intensidad; ++ intensidad media, + baja intensidad; no detectada.

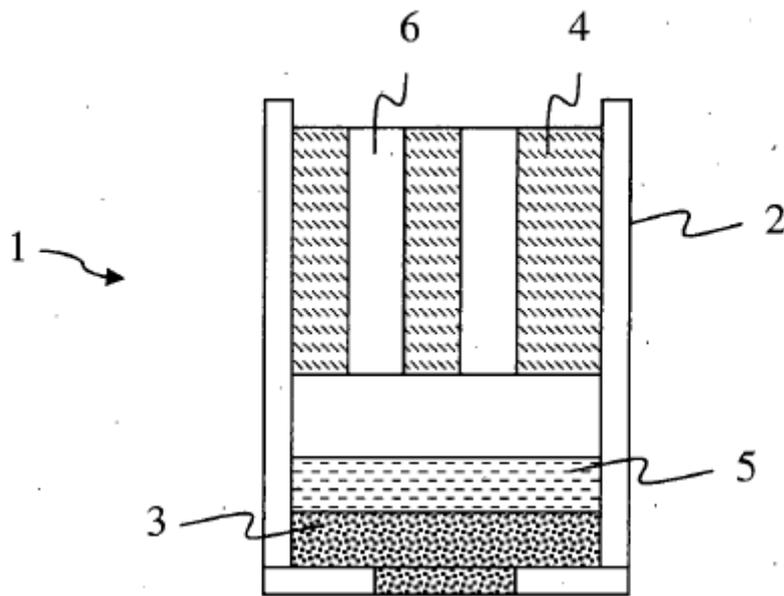
	Respuesta en la Tira Reactiva	
	superficie de metal	superficie laminada de madera
ovoalbúmina		
50ng	++++	++++
100ng	++++	++++
1ug	++++	++++
esporas BG		
1x10 ⁶	++	++
1x10 ⁵	+	+
1x10 ⁴	-	-

5 El dispositivo de compresión de las Figuras 4 y 5 es por tanto capaz de tomar muestras y detectar concentraciones similares del analito objetivo como el kit de prueba de flujo lateral convencional. Sin embargo es una mejora sobre el kit de prueba convencional en que el dispositivo de compresión se diseña para tomar muestras en un área mucho mayor, y de hecho ha sido mostrado para tomar muestras e identificar de manera positiva el analito objetivo de un área de superficie aproximadamente 30 veces mayor que la de un hisopo de algodón con la misma respuesta de detección.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo (1) para detectar un analito objetivo en una superficie que comprende un miembro (2) femenino que tiene una primera región y una segunda región, un miembro (4) masculino correspondiente acoplado dentro de la primera región del miembro femenino que es capaz de moverse dentro del miembro femenino en respuesta a una fuerza aplicada, comprendiendo dicho miembro masculino un medio (6) de detección del analito objetivo, y un material (3) absorbente soportado dentro de la segunda región del miembro femenino que está al menos de manera parcial disponible externamente para entrar en contacto con la superficie y recoger el analito objetivo, en donde el miembro masculino es capaz de aplicar presión al material absorbente a través del movimiento del miembro masculino dentro del miembro femenino, de manera tal que en la práctica la mayoría del fluido absorbido por el material absorbente se exprime desde el material absorbente y se queda en el dispositivo. para comunicarse con el medio de detección.
2. Un dispositivo según la Reivindicación 1, en la cual el medio (6) de detección es una tira reactiva de flujo lateral.
3. Un dispositivo según las Reivindicaciones 1 a 2 que comprende además un material de filtro o una capa (5) de filtro situada entre el material (3) absorbente y el medio (6) de detección.
4. Un dispositivo según la Reivindicación 3, en la cual el material de filtro o la capa (5) de filtro está en contacto con el material (3) absorbente, y está separada del medio (6) de detección.
5. Un dispositivo según las Reivindicaciones 1 a 4, en la cual el dispositivo además define un orificio o una abertura en el miembro femenino para proporcionar el material absorbente que está al menos de manera parcial disponible externamente.
6. Un dispositivo según la Reivindicación 5, en la cual el miembro masculino tiene un orificio o una abertura situada en una superficie del miembro masculino capaz de comunicarse con el material absorbente mayor en área de superficie que la del orificio o la abertura en el miembro femenino, de manera tal que en la práctica la mayoría del fluido absorbido con el material absorbente es exprimido desde el material absorbente y se queda en el dispositivo.
7. Un dispositivo según las Reivindicación 1 a 6, en las cuales el dispositivo es transparente o comprende una ventana para permitir la inspección visual de cualquier indicación visual de un resultado positivo y/o negativo producido por el medio de detección.
8. Un dispositivo según las Reivindicaciones 1 a 7, en las cuales un fluido es adsorbido con el material absorbente.
9. Un dispositivo según la Reivindicación 8 que comprende además los medios para evitar la pérdida o la evaporación del fluido desde el material absorbente.
10. Un dispositivo según la Reivindicación 9, en la cual los medios para evitar la pérdida o la evaporación comprenden uno o más sellos de aluminio herméticos.
11. Un método para detectar un analito objetivo en una superficie que comprende los pasos de proporcionar un dispositivo (1) de las Reivindicaciones 1 a 7, la absorción de un fluido con el material (3) absorbente del dispositivo, poner en contacto el material absorbente con la superficie, aplicar una fuerza al miembro (4) masculino de manera tal que la presión se aplique al material absorbente para exprimir al fluido desde el material absorbente dentro del dispositivo, y el medio (6) de detección se comunica con el fluido, y detecta el analito objetivo a través de una respuesta medible proporcionada por el medio de detección.
12. Un método para detectar un analito objetivo en una superficie que comprende los pasos de proporcionar un dispositivo (1) de las Reivindicaciones 8 a 10, poner en contacto el material (3) absorbente del dispositivo con la superficie, aplicar una fuerza al miembro (4) masculino de manera tal que la presión se aplique al material absorbente para exprimir el fluido desde el material absorbente dentro del dispositivo, y el medio (6) de detección se comunica con el fluido, y detectar el analito objetivo a través de una respuesta medible proporcionada por el medio de detección.
13. El uso de un dispositivo según las Reivindicaciones 1 a 10 para detectar contaminantes de superficie.

Figura 1



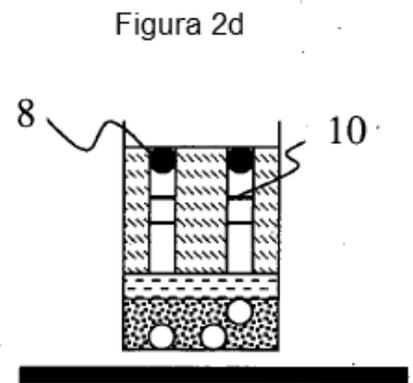
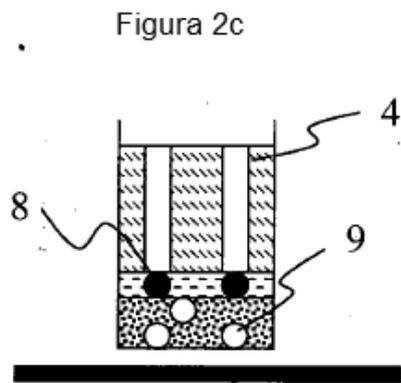
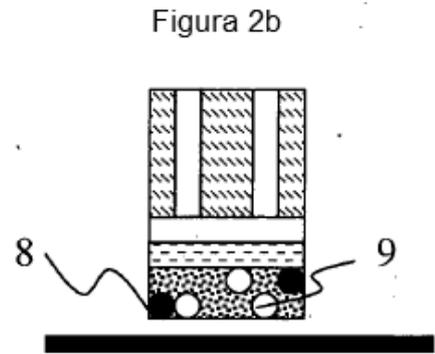
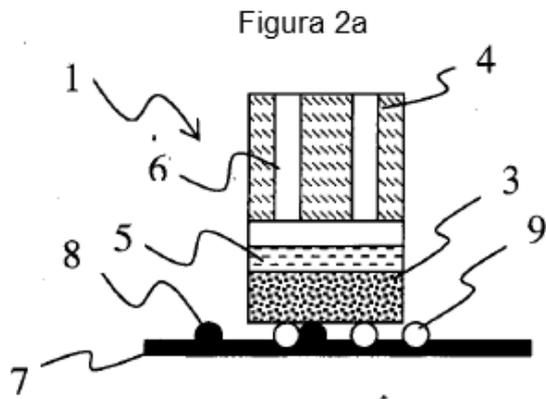


Figura 3

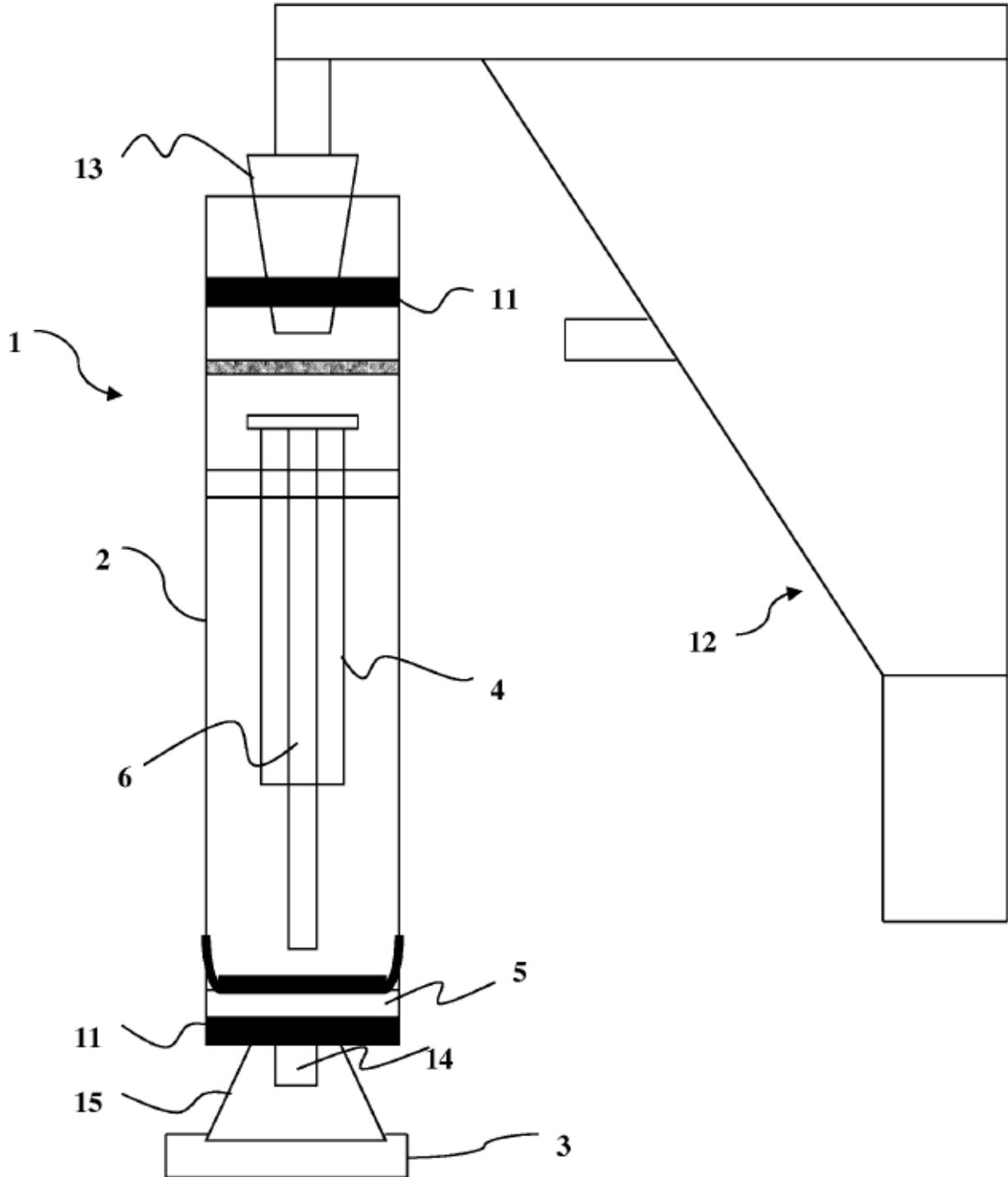


Figura 4

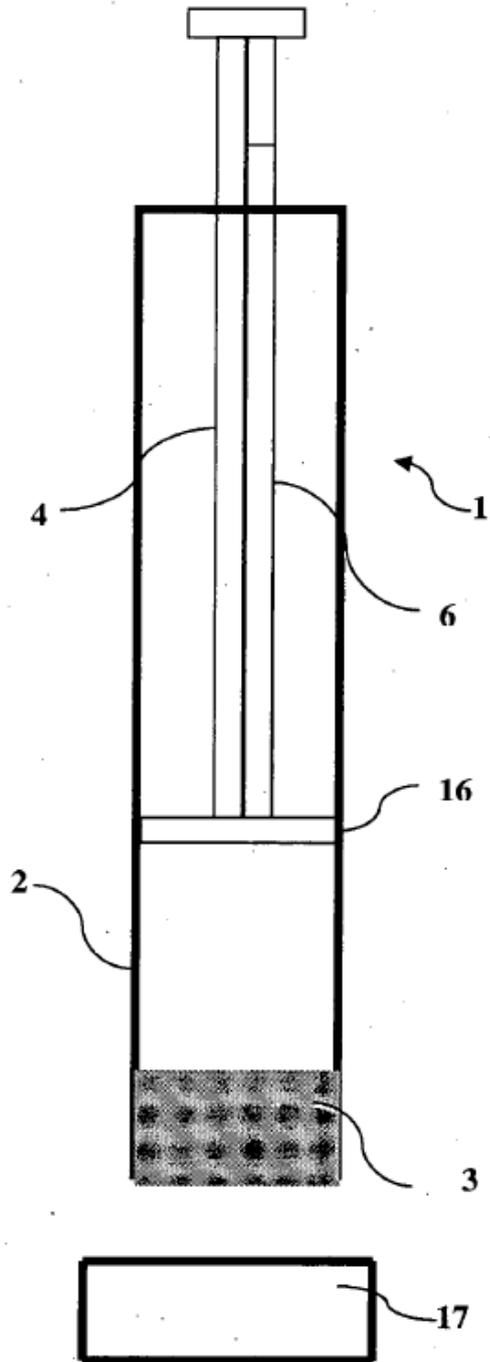


Figura 5

