

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 705 530**

51 Int. Cl.:

G01N 33/558 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.11.2011 PCT/DE2011/075292**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.07.2012 WO12097788**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2011 E 11817311 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2018 EP 2646825**

54 Título: **Ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos así como dispositivo para la realización del ensayo rápido**

30 Prioridad:
03.12.2010 DE 102010061028

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.03.2019

73 Titular/es:
**ABVIRIS DEUTSCHLAND GMBH (100.0%)
Alter Teichweg 22a
22949 Ammersbek, DE**

72 Inventor/es:
HILFRICH, RALF

74 Agente/Representante:
ISERN JARA, Jorge

ES 2 705 530 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

Ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos así como dispositivo para la realización del ensayo rápido

5 La invención se refiere a un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos. La invención se refiere además a un dispositivo para la realización de un ensayo rápido de este tipo.

10 Antecedentes tecnológicos y estado de la técnica

15 Los virus del papiloma humanos, abreviados VPH, forman un grupo de virus que se clasifican entretanto en más de 100 tipos. Los virus atacan las células epiteliales de la piel o distintas mucosas y originan en las células infectadas un crecimiento no controlado, a modo de tumor. Los tumores son benignos en la mayoría de los casos y conducen únicamente a la formación de verrugas en el sitio de la piel o mucosa afectado, en el que se encuentra la infección por los virus.

20 Sin embargo, los virus del papiloma humanos no sólo originan tumores benignos. Algunos tipos de VPH pueden causar también modificaciones malignas. Por ejemplo, los virus del papiloma humanos se encuentran bajo sospecha de participar en la producción de cáncer de cuello uterino, el denominado carcinoma cervical. También se encuentran los virus del papiloma humanos bajo sospecha de originar carcinomas de vagina, de pene y anales o al menos de participar en su producción.

25 Para prevenir un crecimiento a modo de tumor de este tipo se han desarrollado en los últimos años vacunas contra virus del papiloma humanos y se han autorizado en Alemania. Mediante la vacunación se reduce considerablemente la probabilidad de una infección de la persona vacunada por virus del papiloma humanos. Sin embargo, la vacunación sólo es eficaz siempre que la persona presente tras esto también anticuerpos contra virus del papiloma humanos y estén presentes los anticuerpos en concentración correspondiente. En este sentido tiene importancia decisiva una detección a través de la actividad de la vacunación.

30 Sin embargo, hasta ahora no está presente un sistema de detección disponible comercialmente para los anticuerpos contra VPH en líquidos corporales.

35 **Objetivo**

La invención tiene como objetivo, por tanto, facilitar un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos con las características mencionadas anteriormente. Además debe proponerse un dispositivo para la realización de un ensayo rápido de este tipo.

40 **Invención y acciones ventajosas**

45 El objetivo se soluciona con un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos, que presenta las características de la reivindicación 1. El objetivo se soluciona además con un dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos con las características de la reivindicación 5. Además se propone para la solución del objetivo un recipiente con las características de la reivindicación 10 y un sistema de análisis con las características de la reivindicación 11. Las configuraciones ventajosas de la invención resultan de las reivindicaciones dependientes, de la siguiente descripción y las figuras.

50 Un ensayo rápido de acuerdo con la invención para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos, en el transcurso de la invención también designados como VPH, propone en una primera etapa de procedimiento que una muestra de líquido corporal, en particular una muestra extraída de un ser humano de líquido corporal, se mezcle con un reactivo, estando constituido el reactivo esencialmente por una cantidad predeterminada de líquido de acción fisiológica, tal como por ejemplo una solución de cloruro de sodio, y una cantidad predeterminada al menos de un antígeno específico de VPH. En una segunda etapa de procedimiento se alimenta entonces la mezcla del reactivo y de la muestra de líquido corporal a un análisis, que usa una modificación medible y/o perceptible por un usuario.

55 Un ensayo rápido de acuerdo con la invención puede producirse una detección de anticuerpos contra VPH de manera sencilla y con poco esfuerzo. No es necesario un análisis costoso y complicado en un laboratorio central. En el caso del ensayo rápido de acuerdo con la invención puede realizarse el estudio diagnóstico ya en el lugar, o sea en la consulta de un médico facultativo o en el hospital directamente en la enfermería.

65

- 5 Para poder realizar un análisis para la detección de anticuerpos humanos contra VPH, se ha intercalado según la invención la etapa de procedimiento que se junta la muestra extraída del ser humano de líquido corporal con el al menos un antígeno específico de VPH para formar ya antes del análisis un complejo del antígeno y posibles anticuerpos contenidos en la muestra. Siempre que en la muestra estén contenidos los anticuerpos correspondientes al al menos un antígeno, se inactiva el reactivo. Siempre que no estén contenidos los anticuerpos correspondientes en la muestra, el reactivo sigue siendo reactivo. Esta propiedades reactivas del reactivo se usa entonces en el análisis.
- 10 Se ha mostrado que un tiempo de permanencia de la muestra de líquido corporal en el reactivo de aproximadamente 10 minutos es suficiente para inactivar el reactivo o no, dependiendo de si están contenidos anticuerpos en la muestra o no. Debido a ello puede realizarse todo el ensayo rápido en el más breve tiempo, de modo que se encuentran por ejemplo resultados sólidos en el intervalo de una duración de tiempo de menos de una hora tras la extracción de muestra.
- 15 Es decisivo en el ensayo rápido de acuerdo con la invención que se proporciona el antígeno específico de VPH en el reactivo sin que el antígeno específico de VPH ejerza su capacidad de reaccionar con anticuerpos contra VPH o disminuya su reactividad con respecto a los anticuerpos. En el ensayo rápido de acuerdo con la invención se usa por tanto el líquido de acción fisiológica, que debido a su modo de acción fisiológico no tiene ni a corto plazo ni a largo plazo una influencia negativa sobre el antígeno específico de VPH o bien su modo de acción en cuanto a anticuerpos contra VPH. Por a corto plazo ha de entenderse a este respecto un espacio de tiempo de hasta aproximadamente 4 a 5 semanas. Además, por a largo plazo ha de entenderse un espacio de tiempo de hasta aproximadamente 2 a 3 años.
- 20 Como líquido de acción fisiológica puede usarse por ejemplo TRIS-BSA con un valor de pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 9,0, preferentemente de 7,2 a 7,4. A este respecto, TRIS es la abreviatura de tris(hidroximetil)-aminometano y BSA la abreviatura de albúmina de suero bovino. Un líquido de acción fisiológica de este tipo es especialmente estable de modo que se evite de manera duradera una influencia negativa sobre el antígeno específico de VPH.
- 25 Es concebible también que como líquido de acción fisiológica se use una solución de cloruro de sodio, en particular con un valor de pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 9,0, preferentemente de 7,2 a 7,4.
- 30 Dependiendo de si en la muestra de líquido corporal están contenidos o no anticuerpos contra virus del papiloma humanos, se produce en el transcurso del análisis una modificación medible y/o perceptible por un usuario o falta una modificación de este tipo. En el ensayo rápido de acuerdo con la invención se identifica por consiguiente mediante el análisis mediante medición o bien percepción de un usuario, si los anticuerpos correspondientes al al menos un antígeno están presentes en la muestra o bien si se encuentran por encima del límite de detección del procedimiento o no están presentes o bien se encuentran por debajo del límite de detección del procedimiento.
- 35 En tanto que el ensayo rápido de acuerdo con la invención únicamente requiera una extracción de una muestra de líquido corporal, que entonces se alimenta a un reactivo y a continuación se somete la mezcla de reactivo y muestra a un análisis, puede producirse un resultado ya con poca intervención sencilla desde la extracción de muestra hasta el resultado del ensayo. También están disponibles rápidamente los resultados del estudio. Con ello es adecuado el ensayo rápido de acuerdo con la invención especialmente para la comprobación de la actividad de una vacuna contra VPH, por ejemplo en la consulta del médico que vacuna.
- 40 La modificación perceptible por el usuario en el transcurso del análisis puede ser una modificación óptica, acústica y/o táctil. Por ejemplo puede usarse al menos un medio fluorescente. El análisis puede usar un efecto de coloración o bien efecto de decoloración o una reacción de color. Básicamente, el análisis puede usar cualquier tipo de reacción medible. Mediante todas estas posibilidades puede determinarse rápidamente el resultado del análisis.
- 45 El ensayo rápido de acuerdo con la invención es adecuado para la detección de anticuerpos contra virus del papiloma humanos. Los virus de este tipo actúan infectando a seres humanos. Básicamente puede usarse el ensayo rápido de acuerdo con la invención también para la detección de anticuerpos contra virus del papiloma no humanos, que infectan por ejemplo a animales. En este caso ha de usarse un antígeno distinto de manera correspondiente antígeno en el transcurso del ensayo rápido.
- 50 Preferentemente, en el caso de falta de anticuerpos contra VPH en la muestra o en el caso de una cantidad de anticuerpos contra VPH en la muestra que se encuentra por debajo o en el intervalo de un límite de detección predeterminado para el antígeno específico de VPH, se modifica un medio de manera perceptible por un usuario y/o de manera medible. La modificación puede tener lugar por una sección de superficie predeterminada del medio o por un volumen predeterminado del medio.
- 55 Debía alimentarse al análisis una cantidad predeterminada de la mezcla constituida por el reactivo y la muestra de líquido corporal. Preferentemente, la cantidad predeterminada debía ser una cantidad parcial de la mezcla existente.
- 60
- 65

Debido a ello, a partir de una muestra extraída y el reactivo combinado con esto pueden realizarse varios estudios diagnósticos, por ejemplo para conseguir una seguridad estadística del resultado.

5 Puede determinarse además la cantidad del al menos un antígeno específico de VPH mediante un límite de detección predeterminado para la cantidad que va a determinarse del al menos un anticuerpo contra VPH contenido en la muestra de líquido. El límite de detección es preferentemente el límite de detección deseado en cada caso, por ejemplo, para determinar que se encuentra una cantidad determinada de anticuerpos contra VPH en la muestra de líquido, para confirmar con ello la inmunidad, por ejemplo debido a una vacunación exitosa.

10 Se determina de manera cualitativa al menos un tipo de anticuerpos contra VPH contenido en la muestra mediante la elección del al menos un antígeno específico de VPH usado. Se determina además mediante una elección correspondiente del antígeno si en la muestra están contenidos anticuerpos contra virus del papiloma humanos del tipo 16. Para ello se usa un antígeno específico de VPH16 en el ensayo rápido.

15 Además se determina mediante una elección correspondiente del antígeno si en la muestra están contenidos anticuerpos contra virus del papiloma humanos con la proteína L1, concretamente si se trata de la proteína L1 del VPH del tipo 16. Para ello se usa un antígeno específico de VPH16L1 en el ensayo rápido.

20 En el transcurso de la invención ha de entenderse por el VPH16 que se trata del tipo 16 de los virus del papiloma humanos. Además, en el transcurso de la invención ha de entenderse por VPH16L1 que se trata de la proteína designada como L1 de los virus del papiloma humanos del tipo 16. En el caso del antígeno que va a usarse se trata, en el transcurso de la invención, de partes constituyentes de virus que pueden desencadenar una respuesta inmunitaria.

25 Según otro aspecto, la invención se refiere a un dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos. El dispositivo de acuerdo con la invención puede usarse para un ensayo rápido del tipo descrito anteriormente.

30 El dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos presenta un recipiente, en el que está contenido un reactivo esencialmente de una cantidad predeterminada de líquido de acción fisiológica, tal como por ejemplo solución de cloruro de sodio, y una cantidad predeterminada al menos de un antígeno específico de VPH, en el que puede echarse hacia el reactivo líquido corporal de una muestra de paciente en el recipiente.

35 El dispositivo presenta además un sistema de análisis que usa una modificación medible y/o perceptible por un usuario. Por ejemplo puede usar el sistema de análisis un efecto de coloración o bien efecto de decoloración o una reacción de color. El sistema de análisis está configurado además para el alojamiento de una cantidad predeterminada de un sustrato que se encuentra en el recipiente.

40 El dispositivo de acuerdo con la invención está construido de manera sencilla debido a ello y permite con bajo esfuerzo un estudio diagnóstico de la muestra de paciente ya en el lugar, por ejemplo en el lugar de la extracción de la muestra. Es posible con ello la determinación de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos ya en la consulta de un médico facultativo o en un hospital directamente en la enfermería. No es necesario un análisis costoso y caro en un laboratorio central. Ya debido a ello resulta una ventaja temporal en el caso de un estudio realizado con el dispositivo de acuerdo con la invención.

45 En tanto que el sistema de análisis pueda usar un efecto de coloración o una reacción de color, puede recurrirse al uso de tiras de ensayo habituales en el comercio y especialmente económicas, tal como se ofrecen por ejemplo en forma de casete. Para poder usar un sistema de análisis de este tipo, se proporciona en el recipiente en el caso del dispositivo de acuerdo con la invención, el al menos un antígeno específico de VPH que se une a los anticuerpos. El líquido de acción fisiológica en el recipiente sirve para mantener intacto el antígeno y por consiguiente permitir, durante un espacio de tiempo predeterminado, el uso del dispositivo con un componente biológico de este tipo. Un posible secado del líquido destrozaría por ejemplo el antígeno.

50 Como antígeno puede usarse cualquier antígeno discrecional que se una a anticuerpos contra virus del papiloma. Dado que deben detectarse anticuerpos contra virus del papiloma humanos del tipo 16L1, pueden usarse correspondientes antígenos específicos de VPH16L1. A este respecto se usan antígenos agregados.

55 El dispositivo de acuerdo con la invención permite un estudio diagnóstico con una muestra que contiene un líquido corporal de cualquier tipo. Como líquido corporal puede usarse por ejemplo sangre, en particular sangre completa, suero, plasma, saliva y exudado.

60 Se ofrece que el recipiente esté separado. Debido a ello, el recipiente forma una unidad separada con respecto al sistema de análisis, que representa a su vez una unidad separada. El recipiente puede usarse debido a ello de manera separada e independientemente del sistema de análisis.

65

- 5 Se ofrece además que el recipiente puede cerrarse. Para ello, el recipiente puede presentar una tapa que puede enroscarse sobre el recipiente por ejemplo por medio de una rosca. En tanto que el recipiente pueda cerrarse, puede introducirse de manera sencilla el reactivo y/o la muestra de líquido corporal. Mediante el cierre del recipiente es posible una conservación libre de fugas así como una manipulación del recipiente. Por ejemplo puede conseguirse en el estado cerrado del recipiente de manera especialmente buena un mezclado de la muestra de paciente y el reactivo, en tanto que el recipiente cerrado se agite en vaivén por un usuario.
- 10 Además se ofrece que el recipiente y eventualmente una tapa o una caperuza de cierre sean de plástico. Debido a ello puede fabricarse el recipiente de manera especialmente económica.
- 15 Según una configuración de la invención puede presentar el recipiente un recipiente interno y una carcasa que rodea el recipiente interno. El recipiente interno puede estar configurado de manera cilíndrica o cónica. Mediante la carcasa puede manipularse bien el recipiente, en particular puede agarrarse bien. También ofrece la carcasa una protección al recipiente interno frente a acciones desde el exterior.
- 20 Según otra configuración puede presentar el recipiente un punto de extracción o bien punto de alojamiento para la muestra de paciente, en particular un punto de extracción o bien punto de alojamiento capilar. Debido a ello puede alojarse por ejemplo una cantidad de sangre ya por medio del propio recipiente a través del punto de extracción o bien punto de extracción capilar de manera sencilla y puede conducirse hacia el espacio interior en el que se encuentra el reactivo.
- 25 El ensayo rápido desde la extracción de la muestra hasta la combinación y mezclado con el reactivo que contiene el antígeno puede realizarse con ello de manera especialmente sencilla y con especialmente poco esfuerzo.
- 30 Según la invención está previsto que el sistema de análisis presente un conjugado que está constituido esencialmente por una cantidad predeterminada al menos de una molécula específica contra VPH y una sustancia que da como resultado una reacción medible y/o perceptible por un usuario. Por ejemplo, la sustancia puede provocar una reacción de color o en caso de acumulación espacial puede dar como resultado una coloración.
- 35 Mediante la sustancia es posible una marcación de color de los componentes que van a determinarse. Mediante la molécula específica contra VPH tendrá lugar una reacción con un correspondiente antígeno específico de VPH aún reactivo, de modo que debido a ello a través de la presencia del antígeno específico de VPH reactivo tiene lugar una detección de color en el transcurso del estudio diagnóstico.
- 40 La molécula específica contra VPH del conjugado es una molécula específica contra VPH16L1. Una molécula de este tipo puede ser un anticuerpo. Es concebible además que la molécula específica contra VPH sea una molécula celular de la célula humana que actúa como receptor. Es decisivo que la molécula reaccione con la proporción de virus del sustrato del recipiente, o sea el reactivo de VPH, siempre que esta proporción sea aún reactiva. La reacción provoca una unión de la molécula a sitios de unión libres del reactivo de VPH o bien del antígeno.
- 45 La sustancia usada para la marcación está constituida preferentemente por oro coloidal y/o plata. Las partículas de oro o bien las partículas de plata de la sustancia presentan a este respecto preferentemente un diámetro de aproximadamente 2 nm (nanómetros) a aproximadamente 100 nm (nanómetros). Preferentemente se encuentra el oro coloidal o bien la plata coloidal en forma agregada.
- 50 Según la invención, el sistema de análisis presenta un medio de soporte, junto al que o en el que puede fluir la cantidad dada del sustrato desde el recipiente, preferentemente partiendo de un sitio de llenado, en dirección al menos de un eje espacial. Debido a ello puede usarse el camino recorrido por el sustrato sobre el medio de soporte para proporcionar, en al menos un sitio predeterminado del camino, al menos una señal de color. Es posible debido a ello una clasificación según las distintas señales de color.
- 55 Se ofrece que el medio de soporte sea un medio poroso, en particular una membrana porosa. Debido a ello se favorece el flujo del sustrato en dirección del al menos un eje espacial.
- 60 Se ofrece además que esté previsto un medio que genere el flujo del sustrato. El medio puede encontrarse al final del camino de flujo del sustrato. El medio puede estar formado por el propio medio de soporte, por ejemplo cuando el medio de soporte es una membrana porosa. El medio puede estar formado entonces en varias capas por una sección del medio de soporte, de modo que en esta zona tenga el medio de soporte un efecto de succión más alto que en la al menos otra sección que está formada por menos estratos o bien capas y presenta con ello propiedades de succión más bajas.
- 65 El medio de soporte y/o medio para la generación del flujo puede estar formado por una estera de espuma o un papel secante o una combinación de los mismos.
- Según la invención, el sistema de análisis presenta una cantidad predeterminada al menos de una molécula que está fijada en un primer sitio predeterminado o una primera zona predeterminada del medio de soporte y en el caso

de que el reactivo del recipiente se encuentre reactivo se une al antígeno. Debido a ello se retienen aquellas moléculas del sustrato que entran en reacción con el conjugado y con ello contraen una unión con el conjugado. La al menos una molécula fijada en el medio de soporte actúa a este respecto como molécula de captura, de modo que los componentes del sustrato que han entrado en reacción con el conjugado se retienen en la primera zona predeterminada o bien el primer sitio.

Además está previsto que la al menos una molécula que está fijada en el medio de soporte y la al menos una molécula que forma el conjugado sean idénticas entre sí. Lógicamente pueden usarse también moléculas distintas una con respecto a otra. A este respecto es decisivo que las dos moléculas, tanto la molécula de captura como también la molécula de conjugado, contraigan una unión con la correspondiente proporción del sustrato, o sea la proporción humana o la proporción de virus.

Otra configuración de la invención prevé que el sistema de análisis presente una cantidad predeterminada al menos de una molécula que se une al al menos una parte constituyente del conjugado y que está fijada en un segundo sitio predeterminado o una segunda zona predeterminada del medio de soporte, en el que observado en dirección de flujo del sustrato dado está dispuesto el segundo sitio o la segunda zona tras el primer sitio. Debido a ello puede realizarse un control de si el sustrato dado sobre el medio de soporte o bien en el medio de soporte ha fluido hasta el segundo sitio o bien la segunda zona. Siempre que ocurra una señal de color en la segunda zona o bien el segundo sitio, se garantiza con ello que el conjugado y el sustrato al menos con sus componentes unidos con el conjugado ha pasado realmente también el primer sitio o bien la primera zona y con ello era suficiente la cantidad dada de sustrato en el sistema de análisis.

Según otro aspecto, la invención comprende un recipiente del tipo descrito anteriormente.

También comprende la invención un sistema de análisis del tipo descrito anteriormente.

La invención permite que se encuentren resultados del ensayo sólidos ya en el intervalo de menos de una hora tras la extracción de una muestra de líquido corporal. Se ha mostrado concretamente que ya tras pocos minutos de la alimentación de la muestra de líquido corporal al reactivo con el antígeno específico de VPH se produce la reacción pretendida de la mezcla y por consiguiente ya tras este breve tiempo puede realizarse el análisis de la mezcla. Siempre que se usen tiras de ensayo para el análisis, se ha mostrado que el ensayo rápido puede realizarse en el intervalo de 15 a aproximadamente 25 minutos a partir de la extracción de la muestra y entonces se encuentra ya un resultado sólido.

Ejemplo de realización

Otros objetivos, ventajas, características y posibilidades de aplicación de la presente invención resultan de la siguiente descripción de un ejemplo de realización por medio de los dibujos. A este respecto, todas las características descritas y/o representadas gráficamente forman de por sí o en combinación útil discrecional el objeto de la presente invención, también independientemente de su agrupación en las reivindicaciones o su dependencia.

Muestran:

la figura 1 una posible forma de realización de un recipiente de un dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos en vista lateral,

la figura 2 una posible forma de realización de un sistema de análisis de un dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos en vista superior,

la figura 3 el sistema de análisis de acuerdo con la figura 2 tras la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos con resultado negativo,

la figura 4 el sistema de análisis de acuerdo con la figura 2 tras la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos con resultado positivo y

la figura 5A a 5F etapas de procedimiento durante la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos.

Las figuras 1 y 2 muestran – en representación esquemática – una posible forma de realización de un dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos, que comprende al menos un recipiente 2 (figura 1) y un

sistema de análisis 4 (figura 2). El dispositivo permite la realización del ensayo rápido en muestras de cualquier líquido corporal, tal como por ejemplo sangre completa, suero, plasma, saliva y exudado.

5 Por medio del dispositivo pueden determinarse anticuerpos humanos contenidos en la muestra contra VPH de cualquier tipo y básicamente también de cualquier concentración. Por motivos de simplicidad se refieren las siguientes realizaciones a modo de ejemplo a la forma de realización del dispositivo, por medio del que se detectan anticuerpos contenidos en la muestra del tipo 16L1. La forma de realización descrita a continuación está diseñada además para que en caso de un resultado de análisis positivo esté contenida una alta concentración de anticuerpos contra VPH16L1 en la muestra de paciente de modo que la persona sometida a prueba esté inmunizada de manera
10 segura contra virus del papiloma humanos.

15 El recipiente 2 presenta en su interior un reactivo 14, que está constituido esencialmente por una cantidad predeterminada de líquido de acción fisiológica, tal como por ejemplo una solución de cloruro de sodio, y una cantidad predeterminada de un antígeno específico de VPH16L1. El recipiente 2 está configurado preferentemente a modo de un tubo, cuyo perímetro exterior forma una carcasa 6. La carcasa 6 rodea un recipiente interno 8, en el que se encuentra el reactivo 14. El recipiente interno 8 puede estar configurado de manera cónica.

20 El recipiente 2 presenta además una caperuza de cierre 12, que preferentemente puede colocarse sobre una abertura del recipiente 2, en particular puede enroscarse. A través de la abertura del recipiente 2 que puede cubrirse por la caperuza de cierre 12 puede alimentarse lógicamente también líquido corporal de la muestra de paciente al interior del recipiente 2, en el que se encuentra el reactivo 14.

25 El interior del recipiente 2 o bien el recipiente interno 8 forma un espacio interno esencialmente libre de fugas, que incluso en el caso de agitación del recipiente 2 esté esencialmente libre de fugas.

30 El sistema de análisis 4 realiza el estudio diagnóstico, usándose un efecto de coloración o bien un efecto de decoloración. Con ello, mediante el sistema de análisis 4 está disponible rápidamente un resultado de análisis y el análisis puede realizarse ya en el lugar en la consulta del médico encargado del tratamiento o en el hospital directamente en la enfermería.

35 El sistema de análisis 4 presenta un sitio de llenado 18, en el que puede introducirse una cantidad predeterminada de sustrato que va a analizarse. La cantidad de sustrato que puede introducirse se predetermina a este respecto mediante la profundidad y preferentemente el diámetro del límite de abertura o bien de la pared perimetral del sitio de llenado 18.

40 El sitio de llenado 18 está formado, por ejemplo, por una abertura de paso por una parte de cubierta 36 de una carcasa 24. Adicionalmente a la parte de cubierta 36, la carcasa 24 presenta una parte de base (no visible en la figura 2), estando dispuesto entre la parte de base y la parte de cubierta 36 un medio de soporte 16, que está formado preferentemente de un material poroso, en particular de una membrana porosa.

45 La parte de cubierta 36 y la parte de base (no visible) pueden estar conformadas una contra otra, de modo que la carcasa esté configurada en una sola pieza. Lógicamente, la parte de cubierta 36 y la parte de base (no visible) pueden ser al menos dos piezas separadas.

50 El medio de soporte 16 o bien la membrana porosa está configurado de manera alargada y sobresale la abertura del sitio de llenado 18 al menos parcialmente, de modo que un sustrato introducido o bien introducido gota a gota en el sitio de llenado 18 pueda fluir en dirección de acuerdo con la flecha 20. El flujo del sustrato se produce por un medio 22 que especialmente puede succionar y debido a ello genera un flujo del sustrato en dirección de acuerdo con la flecha 20. El medio 22, en la forma de realización del sistema de análisis 4 de acuerdo con la figura 2, está formado por secciones del medio de soporte 16 colocadas una sobre otra en varias capas, de manera que en esta zona el medio de soporte presenta una capacidad de succión más grande que en la zona de menos capas, en particular de una sola capa, que está configurada entre el sitio de llenado 18 y el medio 22.

55 El sistema de análisis 4 presenta además un conjugado (no visible en la figura 2), que está constituido esencialmente por una cantidad predeterminada de una molécula específica contra VPH16L1, que está marcada con oro coloidal.

60 Preferentemente está dispuesto el conjugado (no visible en la figura 2) en la proximidad o en la zona del sitio de llenado 18 en el medio de soporte 16, de modo que durante el llenado del sistema de análisis 4 a través del sitio de llenado 18 entra en contacto el sustrato con el conjugado.

65 Además, el sistema de análisis 4 presenta una cantidad predeterminada de una molécula (no visible en la figura 2), que está fijada en una primera zona predeterminada en el medio de soporte 16. La primera zona (no visible en la figura 2) está dispuesta, observada en dirección de flujo 20, aproximadamente en la zona de la señal T prevista en la parte de cubierta 36.

Además, el sistema de análisis 4 presenta una cantidad predeterminada de una molécula (no visible en la figura 2) que está fijada en una segunda zona predeterminada en el medio de soporte 16. La segunda zona está dispuesta, observada en dirección de flujo 20, aproximadamente en la zona de la señal C prevista en la parte de cubierta 36 y por consiguiente está conectada posteriormente a la primera zona.

La cantidad fijada en la primera zona de una molécula (no visible en la figura 2) tiene la propiedad, en caso de un sustrato reactivo que fluye en dirección de flujo 20 y llega a la primera zona, de unirse con una parte constituyente del sustrato. A la molécula se añade con ello una acción de captura con respecto al sustrato aún reactivo, que en el caso de una unión a través del conjugado se acumula en la primera zona.

La cantidad predeterminada de la al menos otra molécula preferentemente es igualmente específica del conjugado, de modo que se une sustrato que fluye en dirección de la flecha 20 junto con el conjugado al alcanzar la segunda zona por las moléculas fijadas existentes allí y por consiguiente también en esta segunda zona se llega a una acumulación del conjugado.

Debido a la marcación del conjugado con oro coloidal provoca el enriquecimiento en la primera zona o bien la segunda zona en cada caso una decoloración visible en el medio de soporte 16. Para que pueda percibirse ópticamente esta decoloración también por el usuario del sistema de análisis 4, la parte de cubierta 36 presenta una abertura de paso que forma un campo de visión 34, a través del cual el usuario puede ver el medio de soporte 16.

La figura 3 muestra el sistema de análisis 4 tras la realización de un ensayo rápido con una muestra de paciente que no contiene anticuerpos humanos contra VPH16L1. Tal como es evidente a partir de esto, es visible en la primera zona 26 así como en la segunda zona 28 en cada caso una línea coloreada en el campo de visión 34.

Dado que en la muestra de paciente extraída no se encuentran anticuerpos contra VPH16L1, sigue siendo reactivo el reactivo del recipiente 2 durante el mezclado con la muestra de paciente. El sustrato extraído del recipiente 2 constituido por la muestra de paciente y el reactivo es debido a ello también aún reactivo con respecto al sistema de análisis 4. Con ello se une el sustrato en este caso al conjugado en el medio de soporte 16. El complejo producido mediante esto se ha unido por la cantidad de moléculas en la primera zona 26 y mediante la cantidad de la molécula fijada en la primera zona 26 se ha retenido allí en el medio de soporte 16, de modo que debido al oro coloidal en el conjugado ha tenido lugar una decoloración óptica en la primera zona 26.

El complejo constituido por el sustrato, al menos el conjugado, ha fluido posteriormente en dirección de acuerdo con la flecha 20 hasta la segunda zona 28. La cantidad de la al menos otra molécula fijada en la segunda zona 28 en el medio de soporte 16 ha capturado el complejo y con ello el oro coloidal también en la segunda zona 28 y debido a la acumulación del oro coloidal conduce a una decoloración óptica en la segunda zona 28.

Mediante la decoloración de la primera zona 26 se ha detectado que no se encuentran anticuerpos contra VPH16L1 o se encuentran únicamente anticuerpos por debajo del límite de detección en la muestra de paciente. Además se confirma mediante la decoloración en la segunda zona 28 que el sustrato y el conjugado han fluido hacia la segunda zona 28 y con ello la cantidad de muestra introducida en el sitio de llenado 18 era suficiente para el análisis.

La figura 4 muestra el resultado de un ensayo rápido con una muestra de paciente que contiene anticuerpos humanos contra VPH16L1 en una cantidad que se encuentra por encima del límite de detección del sistema de análisis 4. En la primera zona 26 no aparece una decoloración. Por el contrario, la segunda zona 28 presenta una decoloración, de modo que debido a ello se confirma el objetivo reglamentaria de una cantidad de sustrato suficiente en el sitio de llenado 18. La falta de decoloración en la primera zona 26 ha de atribuirse a que el reactivo 14 contenido en el recipiente 2 se inactivó mediante los anticuerpos contra VPH16L1 contenidos en la muestra de paciente. Debido a ello no tiene lugar en el sistema de análisis 4 una reacción del sustrato con el conjugado, de modo que no aparece en la primera zona 26 una señal de color.

Las figuras 5A a 5F muestran las etapas de procedimiento durante la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa o bien cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos, en el que se usa el recipiente 2 y el sistema de análisis 4.

Se extrae una muestra de sangre completa. Para ello puede realizarse por ejemplo por medio de una lanceta 30 un pinchazo en el dedo y de esto recoger una cantidad predeterminada de sangre por medio de una pipeta 32 (figuras 5A y 5B). A continuación se alimenta una cantidad predeterminada de la sangre al recipiente 2 con el reactivo 14 y el recipiente 2 se agita varias veces y se deja reposar durante un espacio de tiempo predeterminado, por ejemplo de 10 minutos. Mediante esto ha tenido lugar un mezclado de la cantidad de muestra con el reactivo 14 (figura 5D).

En otra etapa se extrae al menos parcialmente entonces el sustrato que se encuentra ahora en el recipiente 2 por medio de una pipeta 32' y se alimenta una cantidad predeterminada, por ejemplo una o varias gotas del sustrato, a través del sitio de llenado 18 al sistema de análisis 4. Dependiendo de si en la muestra de paciente está presente o no una cantidad de anticuerpos contra VPH16L1 que se encuentra por encima del límite de detección del sistema de análisis 4, se llega a la decoloración en la primera zona 26 o no aparece una decoloración de este tipo (figura 5F).

Lista de números de referencia

	2	recipiente
	4	sistema de análisis
5	6	carcasa
	8	recipiente interno
	12	caperuza de cierre
	14	reactivo
	16	medio de soporte
10	18	sitio de llenado
	20	dirección de flujo
	22	medio
	24	carcasa
	26	primera zona
15	28	segunda zona
	30	lanceta
	32, 32'	pipeta
	34	campo de visión
20	36	parte de cubierta

REIVINDICACIONES

1. Ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos del tipo 16 (VPH16),

5 en el que se mezcla una muestra de líquido corporal con un reactivo (14) que está constituido esencialmente por una cantidad predeterminada de líquido de acción fisiológica y una cantidad predeterminada al menos de un antígeno, en el que el antígeno está agregado y es reactivo con respecto a anticuerpos contenidos en el líquido corporal, que son específicos contra la proteína L1 del VPH16 (anticuerpos específicos contra VPH16L1) y en el que el líquido actúa fisiológicamente sobre el antígeno para mantener la reactividad del antígeno con respecto a estos anticuerpos, y en el que a continuación se alimenta la mezcla a un análisis, análisis que usa:

- 15 • un conjugado que está constituido esencialmente por una cantidad predeterminada al menos de una molécula y una sustancia que provoca una reacción medible y/o perceptible por un usuario o en caso de acumulación espacial da como resultado una modificación medible y/o perceptible por un usuario, en el que la al menos una molécula es específica contra la proteína L1 del VPH16 y se une al antígeno cuando el antígeno es aún reactivo,
- 20 • un medio de soporte (16), junto al que o en el que puede fluir la cantidad dada de la mezcla en dirección al menos de un eje espacial (20),
- 25 • una cantidad predeterminada al menos de una molécula de captura que está fijada en un primer sitio predeterminado o una primera zona predeterminada (26) del medio de soporte (16) y se une al al menos un antígeno cuando el antígeno es aún reactivo, en el que la molécula de captura y la molécula del conjugado son idénticas una con respecto a otra de manera que ambas contraen una unión con el antígeno, y el antígeno es aún reactivo cuando en la muestra de líquido corporal no están presentes anticuerpos específicos contra VPH16L1 o se encuentran por debajo del límite de detección del procedimiento.

2. Ensayo rápido según la reivindicación 1, caracterizado por que una cantidad predeterminada de la mezcla se alimenta al análisis.

3. Ensayo rápido según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que la cantidad del al menos un antígeno se determina mediante un límite de detección predeterminado para la cantidad que va a determinarse de los anticuerpos específicos contra VPH16L1 contenidos en la muestra de líquido.

35 4. Ensayo rápido según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que en el caso de ausencia de anticuerpos específicos contra VPH16L1 en la muestra o en el caso de una cantidad de anticuerpos específicos contra VPH16L1 en la muestra, que se encuentra por debajo o en el intervalo de un límite de detección predeterminado para los anticuerpos específicos contra VPH16L1, se modifica un medio, en particular por una sección superficial predeterminada o un volumen predeterminado, de manera perceptible por un usuario y/o de manera medible.

45 5. Dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos del tipo 16 (VPH16), en particular según una de las reivindicaciones anteriores,

50 con un recipiente (2), en el que está contenido un reactivo (14) constituido esencialmente por una cantidad predeterminada de líquido de acción fisiológica y una cantidad predeterminada al menos de un antígeno y en el que puede echarse hacia el reactivo (14) líquido corporal de una muestra de paciente, en el que el antígeno está agregado y es reactivo con respecto a anticuerpos contenidos en el líquido corporal, que son específicos contra la proteína L1 del VPH16 (anticuerpos específicos contra VPH16L1), y en el que el líquido actúa fisiológicamente sobre el antígeno para mantener la reactividad del antígeno con respecto a estos anticuerpos, y con un sistema de análisis (4) que está configurado para el alojamiento de una cantidad predeterminada de un sustrato que se encuentra en el recipiente (2) constituido por el reactivo (14) y la muestra de paciente y usa una modificación medible y/o perceptible por un usuario provocada por el sustrato, sistema de análisis (4) que presenta:

- 60 • un conjugado que está constituido esencialmente por una cantidad predeterminada al menos de una molécula y una sustancia que provoca una reacción medible y/o perceptible por un usuario o en caso de acumulación espacial da como resultado una modificación medible y/o perceptible por un usuario, en el que la al menos una molécula es específica contra la proteína L1 del VPH16 y se une al antígeno cuando el antígeno es aún reactivo,
- 65 • un medio de soporte (16), junto al que o en el que puede fluir la cantidad dada del sustrato desde el recipiente (2) en dirección al menos de un eje espacial (20),
- una cantidad predeterminada al menos de una molécula de captura que está fijada en un primer sitio predeterminado o una primera zona predeterminada (26) del medio de soporte (16) y se une al al menos un antígeno cuando el antígeno es aún reactivo,

en el que la molécula de captura y la molécula del conjugado son idénticas una con respecto a otra de manera que ambas contraen una unión con el antígeno, y el antígeno es aún reactivo cuando en la muestra de líquido corporal no están presentes anticuerpos específicos contra VPH16L1 o se encuentran por debajo del límite de detección del sistema de análisis (4).

- 5
6. Dispositivo según la reivindicación 5, caracterizado por que el recipiente (2) puede cerrarse.
7. Dispositivo según la reivindicación 5 o 6, caracterizado por que el recipiente (2) presenta un punto de extracción para la muestra de paciente, en particular punto de extracción capilar (10).
- 10
8. Dispositivo según una de las reivindicaciones 5 a 7, caracterizado por que la sustancia está constituida por oro coloidal y/o plata coloidal, en particular en forma agregada.
9. Dispositivo según una de las reivindicaciones 5 a 8, caracterizado por que el sistema de análisis (4) presenta una cantidad predeterminada al menos de una molécula que se une a al menos una parte constituyente del conjugado y que está fijada en un segundo sitio predeterminado o una segunda zona predeterminada (28) del medio de soporte (16), en el que observado en dirección de flujo (20) del sustrato dado, el segundo sitio o la segunda zona (28) está dispuesta preferentemente tras el primer sitio o la primera zona (26).
- 15
10. Recipiente (2) para un dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos del tipo 16 (VPH16),
- 20

en el que en el recipiente (2) está contenido un reactivo (14) constituido esencialmente por una cantidad predeterminada de líquido de acción fisiológica y una cantidad predeterminada al menos de un antígeno y puede echarse hacia el reactivo (14) líquido corporal de una muestra de paciente en el recipiente (2),

25

en el que el antígeno está agregado y es reactivo con respecto a anticuerpos contenidos en el líquido corporal, que son específicos contra la proteína L1 del VPH16,

en el que el líquido actúa fisiológicamente sobre el antígeno para mantener la reactividad del antígeno con respecto a estos anticuerpos y

30

en el que el recipiente (2) presenta un recipiente interno (8) y una carcasa (6) que rodea el recipiente interno (8) y en el recipiente interno (8) se encuentra el reactivo (14).

11. Sistema de análisis (4) para un dispositivo para la realización de un ensayo rápido para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de anticuerpos contenidos en líquido corporal contra virus del papiloma humanos del tipo 16 (VPH16),

35

en el que el sistema de análisis está ajustado para alojar una cantidad predeterminada de un sustrato que se encuentra en un recipiente (2) y para usar una modificación medible y/o perceptible por un usuario provocada por el sustrato,

40

en el que el sustrato está constituido por un reactivo (14) y líquido corporal de una muestra de paciente y el reactivo (14) está constituido esencialmente por una cantidad predeterminada de líquido de acción fisiológica y una cantidad predeterminada al menos de un antígeno,

45

en el que el antígeno está agregado y es reactivo con respecto a anticuerpos contenidos en el líquido corporal, que son específicos contra la proteína L1 del VPH16 (anticuerpos específicos contra VPH16L1), y el líquido actúa fisiológicamente sobre el antígeno para mantener la reactividad del antígeno con respecto a estos anticuerpos,

en el que el sistema de análisis (4) comprende además:

50

- un conjugado que está constituido esencialmente por una cantidad predeterminada al menos de una molécula y una sustancia que provoca una reacción medible y/o perceptible por un usuario o en caso de acumulación espacial da como resultado una modificación medible y/o perceptible por un usuario, en el que la al menos una molécula es específica contra la proteína L1 del VPH16 y se une al antígeno cuando el antígeno es aún reactivo,

55

- un medio de soporte (16), junto al que o en el que puede fluir la cantidad dada del sustrato desde el recipiente (2) en dirección al menos de un eje espacial (20),

- una cantidad predeterminada al menos de una molécula de captura que está fijada en un primer sitio predeterminado o una primera zona predeterminada (26) del medio de soporte (16) y se une al al menos un antígeno cuando el antígeno es aún reactivo,

60

en el que la molécula de captura y la molécula del conjugado son idénticas una con respecto a otra de manera que ambas contraen una unión con el antígeno, y el antígeno es aún reactivo cuando en la muestra de líquido corporal no están presentes anticuerpos específicos contra VPH16L1 o se encuentran por debajo del límite de detección del sistema de análisis (4).

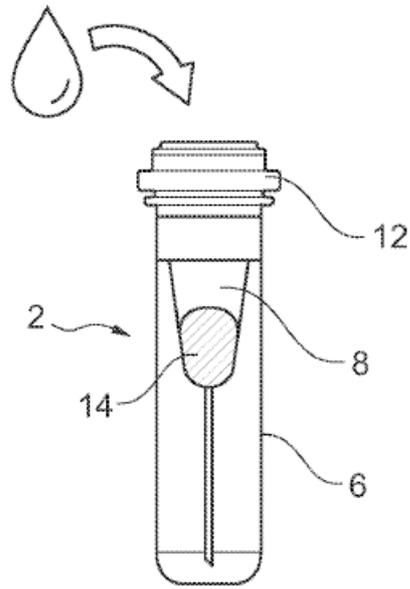


Fig. 1

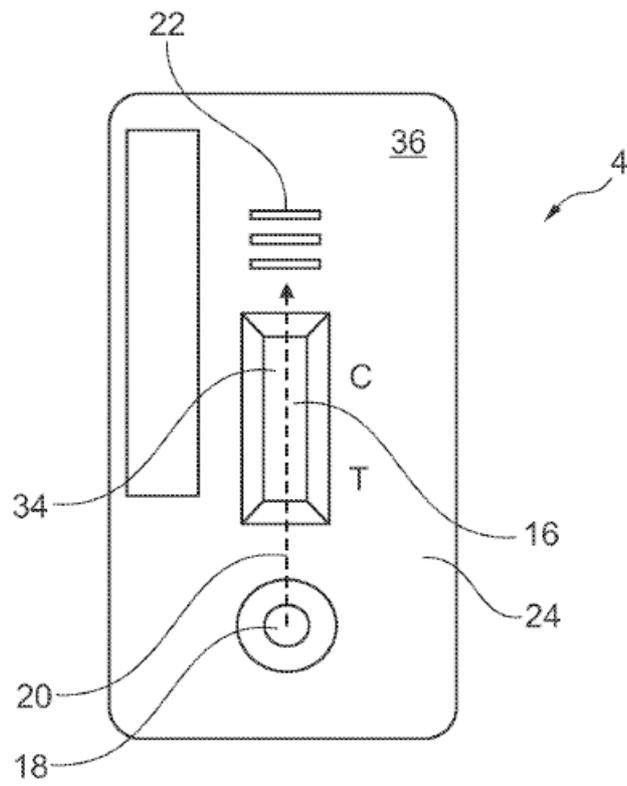


Fig. 2

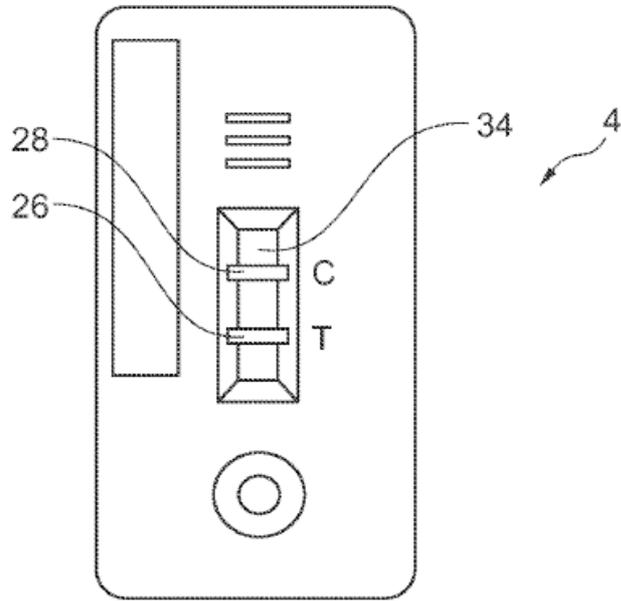


Fig. 3

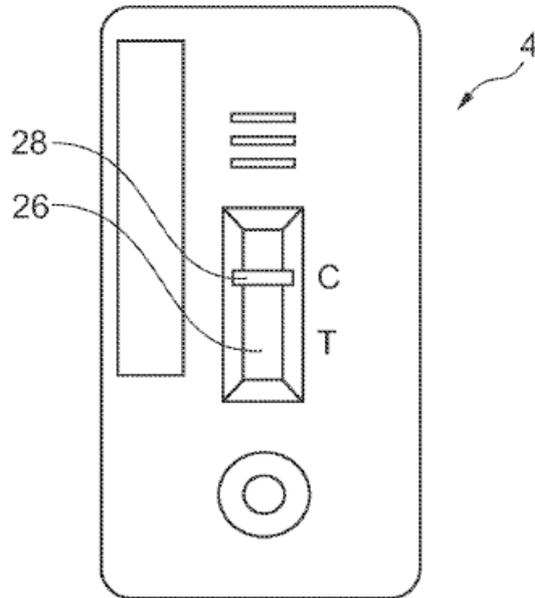


Fig. 4

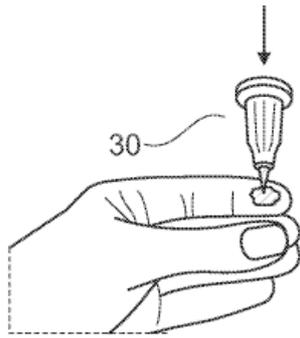


Fig. 5A

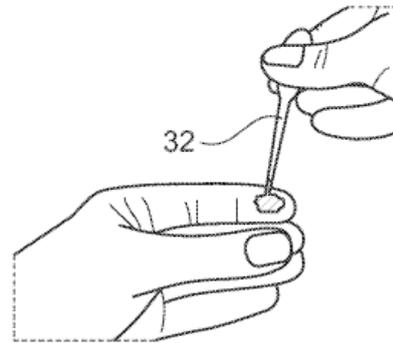


Fig. 5B

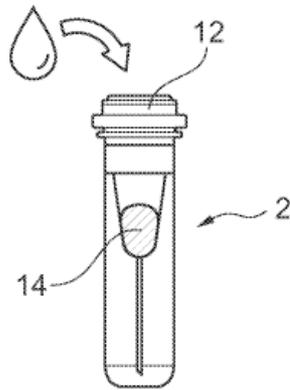


Fig. 5C

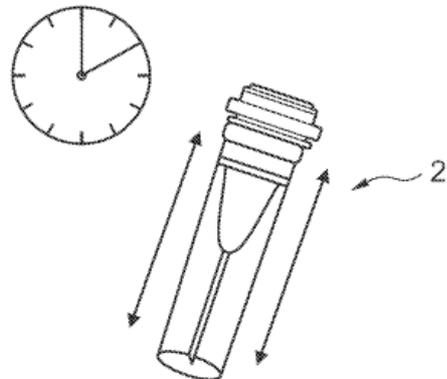


Fig. 5D

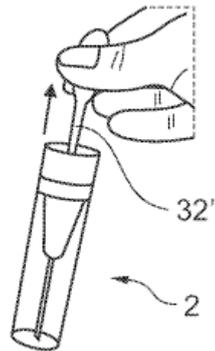


Fig. 5E

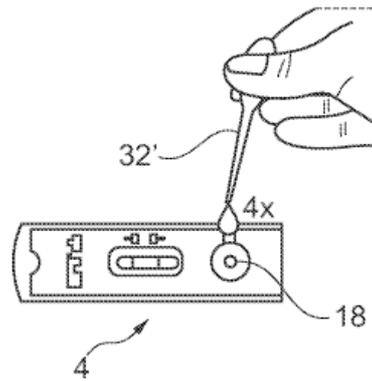


Fig. 5F