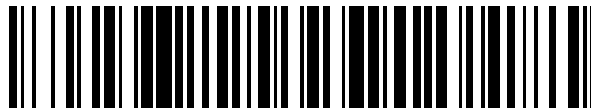


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 451**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2011 E 16178980 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 3100787**

54 Título: **Método para el análisis de muestras**

30 Prioridad:

25.08.2010 GB 201014167

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

17.04.2020

73 Titular/es:

**ALERE TOXICOLOGY PLC (100.0%)
92 Park Drive Milton Park
Abingdon, Oxfordshire OX14 4RY, GB**

72 Inventor/es:

**PANG, ALAN;
JOWETT, GORDON THOMAS;
LILLIS, BARRY y
FAIRBANK, JACK**

74 Agente/Representante:

RIZZO , Sergio

ES 2 754 451 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

Método para el análisis de muestras

Campo técnico

5 **[0001]** La presente invención se refiere a un método para llevar a cabo un inmunoensayo de flujo lateral mediante el uso de una o más tiras de ensayo de flujo lateral.

Antecedentes

10 **[0002]** Un ensayo de enlace específico es un ensayo que ofrece una prueba bioquímica para detectar la presencia o concentración de una sustancia en soluciones que contienen frecuentemente una mezcla compleja de sustancias. Un ejemplo de un ensayo de enlace específico es el inmunoensayo. Los inmunoensayos se basan en la capacidad de un anticuerpo de enlazarse con alta especificidad a una molécula o a un grupo muy limitado de moléculas. A la molécula que se une a un anticuerpo se le denomina antígeno. Los inmunoensayos pueden llevarse a cabo para detectar la presencia en una solución de cualquiera de entre un miembro de un par de antígeno/anticuerpo. Para la detección de antígeno (es decir, en los casos en que el antígeno es el analito), un anticuerpo que se une específicamente a dicho antígeno puede prepararse para su uso como reactivo analítico. En cualquier caso, la especificidad del ensayo depende del grado en que el reactivo analítico es capaz de unirse a su pareja de enlace específica excluyendo todas las demás sustancias que pueden estar presentes en la muestra que se ha de analizar. Además de la necesidad de especificidad, debe seleccionarse una pareja de enlace que presente una afinidad lo suficientemente alta como para que el analito permita una medición precisa. 20 Los requisitos de afinidad dependen del formato de ensayo concreto que se utiliza.

25 **[0003]** Un inmunoensayo de unión competitivo es un ejemplo concreto del inmunoensayo. Esto puede entenderse mejor si se tiene en cuenta el ejemplo específico de una prueba para una molécula de droga en concreto; por ejemplo, la cocaína. En este caso, se obtiene una muestra de un sujeto del que se sospecha que ha tomado la droga. Puede tratarse de una muestra de saliva, sangre u orina. A continuación, se mezcla la muestra con una solución que contiene un anticuerpo para dicha droga. Normalmente, estos anticuerpos se marcan con algún marcador detectable; por ejemplo, una partícula dorada, un marcador fluorescente, etc. Si la droga está presente, las moléculas de anticuerpo marcadas se unen a las moléculas de droga en su totalidad. A continuación, se expone la mezcla a un elemento de prueba al que se unen las moléculas de droga que se están analizando. Si la droga está presente en la muestra, ya no habrá ningún anticuerpo marcado libre disponible para unirse al elemento de prueba. No se producirá ningún cambio detectable. Si, por el contrario, no hay ninguna droga presente en la muestra, habrá disponibles anticuerpos marcados libres y se unirán al elemento de prueba. Se producirá un cambio detectable. Los expertos en la materia observarán que, en lugar de unirse las propias moléculas de droga al elemento de prueba, pueden unirse análogos de la molécula de droga, es decir, moléculas que poseen el grupo o los grupos de enlace pertinente/s. 30

35 **[0004]** Los inmunoensayos de unión competitivos pueden llevarse a cabo con un dispositivo de flujo lateral. Dicha metodología de prueba se describe en el documento de patente GB 2339615 de Cozart Bioscience Limited, que corresponde a la Solicitud Internacional publicada WO 00/04381 y *Journal of Forensic Science* 2001, volumen 46, páginas 1214-1220. Una característica común de los dispositivos de flujo lateral para la detección de analitos es la provisión de una tira o lámina de ensayo que comprende un material poroso seco, como nitrocelulosa, a través de la cual puede obtenerse una muestra de líquido para alcanzar una o más zonas de detección de analitos espacialmente distintas. Cada una de dichas zonas presenta un reactivo de unión específico inmovilizado. 40

45 **[0005]** En la figura 1 se ilustra de forma esquemática una tira de ensayo para su uso en la realización de un inmunoensayo de flujo lateral en el que el número de referencia 1 identifica una tira porosa de hoja de nitrocelulosa laminada sobre un soporte de apoyo, el número 2 identifica la zona de detección de analitos que presenta el analito inmovilizado (o un análogo del analito), el número 3 identifica una zona de control que presenta el anticuerpo inmovilizado para capturar el anticuerpo marcado, el número 4 es una almohadilla de liberación de marca que libera anticuerpo marcado en líquido atraído hacia esta almohadilla de la almohadilla de recepción de muestra, el número 5 y el número 6 identifican una almohadilla de mecha.

50 **[0006]** En el documento de patente GB2339615 también se describe un aparato para leer resultados de pruebas llevadas a cabo con la tira de ensayo de flujo lateral del tipo que se ilustra en la figura 1. De acuerdo con el enfoque descrito, las tiras de ensayo se integran en un cartucho desechable, comprendiendo el recipiente de cartucho desechable un recipiente de torunda para la recepción del extremo de una torunda sobre la que se ha colocado una muestra de ensayo (p. ej., saliva). Para llevar a cabo un ensayo, el recipiente de torunda se carga con una solución tampón y se inserta la torunda. (El recipiente de torunda puede cargarse previamente y cerrarse la parte superior con una tapa de papel de aluminio extraíble). La muestra de ensayo se mezcla con la solución tampón y se empapa sobre y a través de la tira de ensayo. El cartucho se inserta en un lector y, tras un periodo de incubación de, por ejemplo, 5 minutos, se lleva a cabo una lectura óptica. Los resultados se muestran 55

en una pantalla digital. Los inmunoensayos del estado de la técnica del tipo descrito en el documento de patente GB2339615 se basan en una mezcla previa de la muestra de ensayo con una solución tampón, y un posterior lavado de la solución por la zona que contiene el anticuerpo marcado y por la tira de ensayo. En la solicitud de patente estadounidense publicada con n.º US2006/0275922 se describe un dispositivo de ensayo de
 5 inmunoensayo de flujo lateral que facilita una primera premezcla de una muestra con un tampón, y una segunda premezcla de la muestra mezclada y el tampón con un reactivo seco que puede ser un antígeno o un anticuerpo marcado. En el documento de patente US2003/153021 A1, se describe un dispositivo y método para la detección del ántrax u otros patógenos en el que pueden instalarse dispositivos de monitoreo independientes e individuales en conductos de aire o en las cañerías de edificios. En el documento de patente US2008/166820 se describen
 10 dispositivos y métodos para pruebas de diagnóstico de fluidos corporales mediante el uso de inmunoensayos de flujo lateral.

[0007] Una alternativa al inmunoensayo de unión competitivo es el denominado inmunoensayo de unión sándwich. En dichos ensayos sándwich, la unión del analito se produce en un mínimo de dos sitios mediante dos fracciones de anticuerpo. La primera fracción se marca como reactivo mientras que la segunda se inmoviliza en
 15 la tira de ensayo. Por lo tanto, la aparición de una indicación visual es una indicación de un resultado de prueba positivo.

Sumario

[0008] La presente invención se refiere a un método para llevar a cabo un inmunoensayo de flujo lateral como se define en la reivindicación 1. Un aspecto no cubierto por la invención y expuesto en la presente memoria es un
 20 aparato para su utilización en la realización de un ensayo para detectar la presencia de un analito o varios analitos en una muestra de ensayo. El aparato comprende un alojamiento que define un hueco para recibir un recolector de muestras, y una cápsula que contiene un líquido tampón, estando la cápsula cerrada mediante una tapa que puede abrirse y estando la cápsula conectada al alojamiento en una relación tal con dicho hueco que la inserción de un recolector de muestras en el hueco hace que se abra la tapa y se libere el líquido tampón en el
 25 hueco. El alojamiento también define una cámara de incubación que contiene o que está configurada para recibir un reactivo, y una abertura que permite la comunicación líquida entre dicho hueco y dicha cámara de incubación. El aparato comprende uno o más elementos de prueba, un miembro de cierre hermético sustancialmente líquido que separa dicha cámara de incubación y dicho(s) elemento(s) de prueba, y un mecanismo de activación operable para abrir dicho miembro de cierre hermético líquido de tal manera que se pone al menos una porción
 30 del o de los elementos de prueba en comunicación líquida con dicha cámara de incubación.

[0009] Los modos de realización de la presente invención permiten una optimización de un ensayo mediante la premezcla de una solución de muestra con un reactivo, antes de introducir la solución mezclada en el o los elemento(s) de prueba.

[0010] La tapa que puede abrirse puede ser una tapa que puede romperse.

[0011] La cápsula puede estar sustancialmente alineada de forma axial con dicho hueco de tal forma que la
 35 inserción de un recolector de muestra en el hueco haga que el recolector impacte dicha tapa y la abra.

[0012] El hueco puede presentar unas dimensiones internas que permiten que se forme un cierre hermético sustancialmente líquido entre el alojamiento y un recolector de muestra insertado, de tal manera que se retiene el líquido tampón liberado en el alojamiento. El hueco puede presentar también unas dimensiones internas de tal
 40 forma que la inserción de un recolector de muestra en la cápsula ejerza una fuerza en el líquido tampón que haga que el líquido fluya al menos parcialmente a través del recolector y a través de dicha abertura hacia la cámara de incubación. Esta disposición reduce el número de pasos de usuario requeridos para llevar a cabo un ensayo.

[0013] El miembro de cierre hermético líquido puede ser un cierre que puede romperse.

[0014] El mecanismo de activación puede comprender un activador accesible a través de una abertura definida por dicho alojamiento, de tal forma que el activador puede accionarse por parte de un mecanismo de puesta en
 45 marcha externo al alojamiento.

[0015] El elemento de prueba o cada uno de los elementos de prueba puede(n) comprender una tira de ensayo para llevar a cabo un ensayo de flujo lateral, en cuyo caso dicho mecanismo de activación puede comprender una placa situada por encima de la tira de ensayo o de cada una de las tiras de ensayo, estando una varilla giratoria fijada a la placa, y estando un soporte de pivote definido por dicho alojamiento, estando dicho activador unido a la placa o varilla giratoria de tal forma que una fuerza aplicada al activador haga que la placa gire y ejerza fuera contra la tira de ensayo o cada una de las tiras de ensayo y, a su vez, haga que la o las tira(s) de ensayo ejerza(n) fuerza contra dicho miembro de cierre hermético líquido, haciendo que dicho miembro de cierre
 50 hermético líquido se abra. El alojamiento puede definir una plataforma de soporte para soportar parcialmente la tira de ensayo o cada una de las tiras de ensayo, de tal forma que la tira de ensayo o cada una de las tiras de ensayo se doble(n) en un borde de la plataforma al accionar dicho mecanismo de activación.

[0016] El mecanismo de activación puede, alternativamente, implementarse proporcionando dicho miembro de cierre hermético sustancialmente líquido como un miembro soluble.

[0017] El aparato puede comprender una almohadilla en dicha cámara de incubación, estando dicho reactivo soportado por dicha almohadilla. El reactivo puede situarse en dicha abertura o al lado de la misma.

5 **[0018]** El alojamiento puede definir además una ventana a través de la cual al menos una porción del elemento de prueba o de cada uno de los elementos de prueba sea(n) visible(s) desde el exterior del alojamiento.

[0019] Dicha abertura se extiende sustancialmente paralela a dicho hueco. El aparato puede comprender un filtro situado en dicha abertura o al lado de la misma.

10 **[0020]** El reactivo y el o los elemento(s) de prueba puede(n) configurarse para permitir que se lleve a cabo un inmunoensayo y, en concreto, para permitir que se lleve a cabo uno entre un inmunoensayo de unión competitivo o de unión sándwich.

[0021] El aparato puede configurarse como un cartucho que debe ser recibido por un sistema de lectura con el fin de leer un resultado o unos resultados de ensayo del aparato. El cartucho puede ser desechable.

15 **[0022]** Otro aspecto no cubierto por la invención y también dado a conocer en la presente memoria es un sistema de lectura adaptado para su uso con un aparato de acuerdo con la descripción anterior, comprendiendo el sistema un alojamiento que define un hueco para recibir el aparato, un accionador para abrir el mecanismo de activación del aparato y un mecanismo de lectura para realizar una lectura a partir del elemento o de cada uno de los elementos de prueba.

Breve descripción de los dibujos

20 **[0023]**

En la figura 1, se ilustra una tira de ensayo de flujo lateral adecuada para llevar a cabo un inmunoensayo;

En la figura 2, se ilustra un recolector de muestra y un cartucho para recibir el recolector;

En la figura 3, se ilustra el recolector de muestra de la figura 2 completamente insertado en el cartucho;

25 En la figura 4, se muestra una vista despiezada del cartucho de la figura 2, donde también se muestra el recolector de muestra;

En la figura 5, se muestra una vista en sección transversal del cartucho de la figura 2 con el recolector de muestra completamente insertado;

En la figura 6, se ilustra de forma esquemática un sistema de lectura óptica con el cartucho de la figura 2 parcialmente insertado en el sistema;

30 En la figura 7, se ilustra el sistema de lectura de cartucho con el cartucho de la figura 2 completamente insertado en el sistema y con el recolector de la figura 2 parcialmente insertado en el cartucho;

En la figura 8A, se muestra una vista en sección transversal del cartucho de la figura 2 con el recolector de muestra completamente insertado, de acuerdo con una primera configuración de funcionamiento;

35 En la figura 8B, se muestra una vista en sección transversal del cartucho de la figura 2 con el recolector de muestra completamente insertado, de acuerdo con una segunda configuración de funcionamiento;

En la figura 9, se ilustran varias vistas en perspectiva y en sección transversal de un sistema de lectura óptica;

En la figura 10, se muestra un diagrama de flujo donde se ilustra un método para llevar a cabo un inmunoensayo de flujo lateral; y

40 En la figura 11, se ilustra esquemáticamente otro modo de realización de un cartucho para recibir un recolector.

Descripción detallada

45 **[0024]** Tal y como se ha analizado anteriormente, los enfoques de la técnica anterior en relación con las pruebas de inmunoensayo de flujo lateral, por lo general, se han basado en una premezcla de la muestra de ensayo con un tampón, y un lavado posterior del tampón a través de una porción seca de la tira de ensayo a la que está unida el anticuerpo marcado. Diversos experimentos han demostrado que puede obtenerse una sensibilidad de detección mejorada al dejar que la solución tampón/muestra se premezcle con el anticuerpo seco y marcado durante un periodo de tiempo, antes de dejar que la solución fluya a través de la tira de ensayo. Si bien el enfoque se describe a continuación con respecto a un ensayo de tipo unión competitivo, se observará que es igualmente aplicable a un ensayo de tipo unión sándwich, así como a otros tipos de ensayo.

55 **[0025]** En la figura 2, se ilustra un recolector 10 formado sustancialmente por un material de plástico rígido. El recolector comprende un mango 11 en un extremo y un cuerpo 12 por lo general cilíndrico. En el extremo alejado del mango, una torunda 13, formada por un material absorbente y fibroso, como algodón, poliéster o espuma hidrófila, es soportada por el cuerpo 12. En funcionamiento, se le pide a un sujeto que se coloque la torunda en la boca, de tal manera que la torunda absorbe saliva. Obviamente, las muestras pueden obtenerse por otros medios; por ejemplo, metiendo el extremo de torunda del recolector en una muestra de orina. Con el fin de hacer más fácil la recolección de muestra, la superficie exterior de la torunda puede formarse con ondulaciones; por

ejemplo, en forma de múltiples nervios que se extienden axialmente a lo largo de la torunda 13. Dicha disposición puede salvar los problemas relacionados con salivas espesas, con mucha mucosidad, al hacer que aumente la zona de superficie de la torunda lo máximo posible y, de esta manera, se reduce la tendencia de la superficie de la torunda de obstruirse con la mucosidad y, por lo tanto, se aumenta absorción. La torunda 13 puede también hacerse de un material de doble densidad. La capa interior es de una densidad relativamente alta como para proporcionar una unión mecánica adecuada para el mango de recolección, mientras que la capa exterior es de una densidad relativamente baja (preferiblemente, la menor densidad posible) como para ofrecer una recolección rápida y reducir la retención de fármaco.

[0026] El recolector 10 puede ser un recolector comercializado por Concateno (Abingdon, Reino Unido) con la marca CERTUS.

[0027] En la figura 2, se ilustra además un cartucho desechable 20, que presenta una abertura y hueco 21 para recibir el recolector 10. En la figura 3, se ilustra el recolector 10 completamente insertado en el cartucho. El cartucho se ilustra además en la vista despiezada de la figura 4. En concreto, el cartucho comprende un alojamiento de cartucho principal 22 y una cubierta de cartucho 23, ambos formados por material de plástico rígido. El alojamiento y la cubierta están configurados con el fin de cerrarse a presión conjuntamente durante el ensamblaje. El alojamiento 22 se moldea para ofrecer un pocillo de incubación 24, donde se coloca una almohadilla de reactivo 25. La almohadilla 25 se impregna con un reactivo; por ejemplo, anticuerpos marcados dorados u otros anticuerpos marcados. Como alternativa a incluir el reactivo en el pocillo 24 al fijarlo a una almohadilla 25, el reactivo puede simplemente depositarse sobre una superficie del pocillo, o dejarse caer en el pocillo como un gránulo.

[0028] El pocillo que contiene la almohadilla 25 se cierra con una capa de separación hidrófoba 26 que descansa por encima de la almohadilla 25. La capa de separación puede, por ejemplo, proporcionarse por una lámina de plástico flexible, hoja metálica, etc. Una estructura particularmente ventajosa para la capa de separación comprende una capa de papel de aluminio inferior en combinación con una capa superior y fina, de plástico. Un marco rectangular de material absorbente se proporciona en la parte superior de la capa de plástico. La capa de plástico se retira dentro de la ventana rectangular. La provisión de la capa de plástico facilita la soldadura térmica de la capa 26 al cartucho.

[0029] El alojamiento de cartucho 22 también se moldea para proporcionar vías 27 para recibir y soportar una pluralidad (en este caso, cuatro) de tiras de ensayo de flujo lateral 28. Durante el ensamblaje, una tira de ensayo 28 se coloca en una de las vías 27 correspondientes, de tal forma que un extremo de la tira se superpone en la superficie superior de la capa de separación 26. Cada tira puede configurarse para analizar un analito distinto. Las tiras presentan una estructura similar a la que se ilustra en la figura 1, con la excepción de que no comprenden la almohadilla de liberación de marca (reactivo) (número de referencia 4 de la figura 1). Esto no es necesario, puesto que el reactivo marcado se impregna en la almohadilla 25. Resulta ventajoso recubrir la superficie superior de la tira de ensayo con una capa fina de plástico transparente. Esto proporciona una resistencia añadida a la tira, lo que ayuda a evitar la separación de las diversas capas de la tira, en concreto cuando la tira se dobla (tal y como se describirá a continuación con más detalle). En un lado del alojamiento de cartucho también se proporciona una abertura de acceso de activador 37a. Es, obviamente, posible que una o varias de las tiras puedan incluir, además, un reactivo marcado (figura 1); por ejemplo, cuando no se necesita preincubación en el pocillo 24. Para estas tiras, algún otro reactivo que se necesite o sea ventajoso, puede también unirse a la almohadilla 25 o introducirse de otra forma en el pocillo durante el análisis.

[0030] Teniendo en cuenta, de nuevo, el hueco 21 de recepción de recolector, este presenta, por lo general, una forma cilíndrica. El hueco 21 presenta aberturas circulares en ambos extremos 29, 30, así como una abertura 42 en el pocillo de incubación 24. La abertura 42 se proporciona como un hueco secundario o "lumen" paralelo al hueco 21 principal. La abertura 42 va desde la superficie de extremo del hueco 21 hacia el pocillo de incubación 24. El tamaño del hueco secundario está pensado para reducir el volumen "muerto" pero también para suministrar el material en el pocillo de incubación bajo la presión requerida para empezar, de forma activa, la rehidratación del reactivo. La entrada a este hueco secundario 42 puede también presentar un filtro "plano" adicional, pensado como un medio para filtrar los restos. El hueco secundario 42 puede, alternativamente, cargarse con un lingote/cilindro de material poroso para alcanzar una función similar pero podría utilizarse también como posición de reactivo adicional o para componentes de "limpieza" de muestra adicionales.

[0031] El cartucho comprende además una cápsula tampón 31 formada por material de plástico rígido. Un extremo abierto de la cápsula se cierra con un cierre de papel de aluminio fino 32. La cápsula 31 está soldada con sonido o fijada de otra manera al extremo 30 del hueco 21 de recepción de recolector.

[0032] El cartucho 20 también comprende una paleta de activación 33 formada como un componente separado. La paleta de activación 33 comprende una placa sustancialmente rectangular 34 formada integralmente con una varilla giratoria 35. La varilla giratoria es soportada en ambos extremos dentro de la cubierta de cartucho 23. La placa 34 descansa directamente sobre y en contacto con los extremos de las tiras de ensayo 28. Un activador 36, formado integralmente con la varilla giratoria 35, sobresale de un extremo de la varilla giratoria. Como se muestra en la figura 3, un receptor de activador 37b está formado en la cubierta de cartucho 23 de tal forma que

el activador 36 es capaz de desplazarse hacia el receptor cuando es empujado desde abajo. El activador puede comprender algún tipo de mecanismo contra la manipulación; por ejemplo, para evitar la activación accidental antes de la inserción del cartucho en un sistema de lectura (véase a continuación). Esto puede requerir, por ejemplo, que el activador se desplace en dos direcciones sustancialmente ortogonales para conseguir la activación. En la figura 3, también se muestra una ventana de lectura 38 formada en la cubierta de la carcasa y que proporciona acceso visual a las tiras de ensayo y, en concreto, a la detección de analito y zonas de control respectivas.

[0033] Un código de barras opcional 39 se imprime o se proporciona de cualquier otra forma sobre una superficie superior de la cubierta de cartucho 23. Este código de barras puede ser leído por un sistema de lectura óptica (descrito a continuación) y proporciona información como el tipo de ensayo de flujo lateral que se lleva a cabo, información de "fecha de caducidad", datos de calibración, etc.

[0034] Haciendo referencia ahora a la vista en sección transversal de la figura 5, esta muestra el recolector 10 completamente insertado en el cartucho 20. Esta vista muestra un aro tórico 40 que entra en un hueco que se extiende en forma de circunferencia alrededor del cuerpo 12 del recolector 10. Esto ofrece un cierre hermético sustancialmente líquido entre el recolector y la pared interior del hueco 21 de recepción cuando el mango está completamente insertado. En la figura 5, también se muestra una varilla indicadora 41 que se extiende axialmente a lo largo del interior del cuerpo 12 de recolector, y que está en comunicación fluida con una superficie interior de la torunda 13. Como se conoce en la técnica, la varilla indicadora es capaz de ofrecer una indicación visual cuando la torunda ha absorbido una muestra suficiente. La varilla indicadora 41 no tiene ninguna función más en el ensayo de flujo lateral. La varilla indicadora 41 puede elegirse por su tasa de mecha, puesto que esto influirá en la velocidad a la que aparece la indicación visual, lo que permite recoger más muestra.

[0035] A la luz de la figura 5, también resultará evidente que la inserción total del recolector 10 en el hueco 21 de recepción dentro del cartucho hará que se rompa el cierre de papel de aluminio 32. Si bien esto puede facilitarse moldeando de forma adecuada el extremo del cuerpo de mango que sobresale más allá de la torunda, es deseable evitar la formación de cualquier elemento con punta en el extremo del recolector (y que podría dar lugar a una lesión del usuario o donante). Un diseño alternativo puede ser proporcionar un conjunto de dientes que sobresalen radialmente alrededor de una porción de la abertura hacia la cápsula tampón cubierta por el cierre de papel de aluminio. Los dientes se extienden alrededor de aproximadamente 180 grados de la abertura y sobresalen radialmente por dentro de tal forma que, cuando el extremo de torunda del recolector es empujado contra el cierre de papel de aluminio, el cierre se rompe por la parte en la que están presentes los dientes, formando una solapa que es empujada hacia la cápsula. La torunda puede comprimirse ligeramente mediante los dientes, permitiendo que la torunda sea empujada todavía más hacia la cápsula. La cápsula puede estrecharse a lo largo de su longitud para facilitar el ajuste adicional de la torunda 13.

[0036] La ruptura del cierre de papel de aluminio 32 mediante el recolector y el movimiento posterior de la torunda hacia la cápsula de tampón 31, hace que la solución tampón sea forzada hacia y a través del material de torunda, mezclándose con el fluido de muestra a medida que se desplaza. La presión también hace que el fluido mezclado sea conducido hacia el pocillo de incubación 24 a través de la abertura 42. A medida que se llena el pocillo 24, la almohadilla de reactivo 25 se hidrata y libera los anticuerpos marcados unidos. Cabe señalar que el cierre facilitado por el aro tórico 40 y la superficie interior del hueco 21 se forma antes de la ruptura del cierre 32 con el fin de impedir que la solución tampón se escape por la abertura 29 de hueco. La posición real en la que se forma el cierre en el hueco puede ajustarse con el fin de regular el volumen de fluido administrado al pocillo de incubación 24 desde la cápsula de tampón.

[0037] En la figura 6, se ilustra de forma esquemática un sistema de lectura óptica 50. Este sistema presenta un hueco de recepción de cartucho 51 con una forma adecuada para recibir el cartucho 20. El sistema presenta un mecanismo de lectura óptica (interno) 52 que comprende detectores y emisores de luz, así como componentes eléctricos y electrónicos adecuados. Estos últimos no se describirán con más detalle, puesto que su interpretación resulta evidente para los expertos en la materia. Basta decir que el mecanismo 52 es capaz de detectar cambios ópticos que se producen en las tiras de ensayo 28 y, en concreto, de detectar cambios en la detección de analito y en las zonas de control. Se proporciona una pantalla 53 para presentar los resultados de un análisis a un usuario. El sistema de lectura también puede comprender un mecanismo para la detección de un ángulo en el que se mantiene el sistema. Este puede presentarse en forma de acelerómetro. La pantalla 53 puede utilizarse para notificar al usuario cuando el sistema no se está manteniendo en el ángulo correcto.

[0038] El lector óptico también comprende una varilla de accionamiento de activador 54 que se desplaza hacia arriba y hacia abajo mediante un accionador solenoide 55 o similar (véase la figura 8 analizada a continuación). Cuando se inserta completamente un cartucho en el hueco de recepción de cartucho 51, la varilla 54 se sitúa directamente por debajo de la abertura 37a de acceso al activador formada en el alojamiento de cartucho 22. El sistema de lectura óptica también comprende un detector de inserción de cartucho 56 que se configura para detectar la inserción total de un cartucho en el sistema de lectura. El detector 56 está acoplado a un ordenador 57 que, a su vez, controla el accionador solenoide 55 y el mecanismo 52 de lectura óptica. El detector 56 puede

emplear un interruptor mecánico o un detector óptico. Un detector óptico adicional 58 también está acoplado al ordenador 57 y está configurado para detectar la inserción del recolector en la cápsula 31.

5 **[0039]** Teniendo en cuenta también el funcionamiento del procedimiento de análisis, el usuario inserta el cartucho en el hueco de recepción de cartucho 51 en el sistema de lectura óptica 50. En la figura 7, se ilustra el cartucho completamente insertado en el sistema de lectura óptica. Entonces, el usuario recoge una muestra de un sujeto e inserta el recolector 10 en el cartucho 20, lo que provoca la liberación del fluido tampón hacia el pocillo de incubación 24 y la hidratación del anticuerpo marcado unido. Cabe señalar aquí que la capa de separación 26 puede formarse de tal manera que, si bien se evita que fluya el líquido del pocillo de incubación 24 hacia la zona que contiene las tiras de ensayo, sí que permite la ventilación de aire desde el pocillo a dicha zona.

10 Esto puede ser útil para evitar la presurización del pocillo 24 durante la inserción del recolector en el cartucho.

[0040] La inserción del cartucho es detectada por el detector 56 y este cambio de estado es transmitido al ordenador 57. El ordenador inicia un primer temporizador. El retraso del temporizador se establece en un periodo adecuado; por ejemplo, 1 minuto. Este periodo puede utilizarse para precalentar las tiras de ensayo 28 (véase a continuación). Cuando expira el temporizador, se muestra un mensaje pidiendo que el usuario inserte un recolector 10 que se ha utilizado para recoger una muestra. El detector 58 se utiliza para detectar la ruptura del cierre de papel de aluminio 32 y, de esta manera, la inserción total del recolector. El detector 58 envía una señal adecuada al ordenador 57. El ordenador 57 reacciona e inicia un segundo temporizador, establecido en un periodo suficiente como para permitir una rehidratación total del reactivo en el pocillo de incubación. Cuando expira este temporizador, el ordenador envía una señal al accionador solenoide 55, que hace que la varilla de accionamiento de activador 54 sea empujada hacia arriba a través de la abertura 37a de acceso al activador formada en el alojamiento de cartucho 23 y en contacto con el activador 36. Una fuerza adicional aplicada a la varilla de accionamiento de activador 54 empuja el activador 36 hacia arriba, donde se aloja dentro del receptor 37b de activador. Obviamente, este movimiento del activador 36 provoca que la varilla unida 35 y la placa 34 giren alrededor del eje de varilla, forzando la placa 34 contra los extremos de las tiras de ensayo 28. En la figura 8, se ilustra el cartucho (vista superior) con la placa en la posición inicial antes del accionamiento, y (vista inferior) con la placa en la posición completamente girada (N.B. La vista superior de la figura 8 ilustra diversos componentes internos del sistema de lectura óptica descrito anteriormente, aunque estos se omiten desde la vista inferior). Cabe señalar, obviamente, que el cartucho puede estar pensado de tal manera que la placa 34 sea empujada de forma lineal por el accionador 55, en lugar de giratoriamente.

20 **[0041]** A medida que la placa 34 es presionada contra las tiras de ensayo 28, las tiras ejercen una fuerza correspondiente contra la capa de separación 26. Esta fuerza hace que la capa de separación se rompa. [La ausencia de una capa de revestimiento de plástico en el centro de la capa de separación reduce la resistencia de la capa de separación en la zona en la que se aplica la presión. La ruptura de la capa de separación 26 puede ser facilitada adicionalmente al proporcionar marcas o perforaciones a lo largo de la capa de separación para debilitar la capa a lo largo de estas marcas.] Cuando se produce la rotura, los extremos de las tiras de ensayo 28 se doblan y son empujados hacia abajo en dirección al pocillo de incubación 24 y en contacto directo con el fluido que hay allí. El fluido es absorbido por las tiras de ensayo y fluye a lo largo de las tiras más allá de la detección de analito y las zonas de control. Puede emplearse un mecanismo de cierre para bloquear la placa 34 en la posición accionada, de tal forma que el solenoide puede desactivarse sin dar lugar a la extracción de las tiras de ensayo del pocillo de incubación. La provisión de un marco de material absorbente alrededor de la periferia de la capa de separación, como se ha descrito anteriormente, puede ayudar a prevenir el escape de fluido del pocillo de incubación 24 que puede, de lo contrario, entrar en contacto con el sistema de lectura óptica 50 y dañarlo.

25 **[0042]** Tras el accionamiento del mecanismo solenoide 55, el ordenador 57 da inicio a un tercer temporizador. La duración del tercer temporizador es tal para permitir un tiempo suficiente como para que se complete el ensayo de flujo lateral. Tras la expiración del tercer temporizador, el mecanismo de lectura óptica 52 lleva a cabo una medición en las partes pertinentes de las tiras. Después de que el ordenador 57 procese los resultados, se muestra un resultado en la pantalla 53. A continuación, el usuario puede extraer y desechar el cartucho y el recipiente usados, y comenzar otro análisis, si se desea. También es posible que el sistema de lectura monitoree el progreso del análisis a medida que avanza. Esto puede permitir la provisión más temprana de un resultado de análisis negativo.

30 **[0043]** Si bien el aparato y el método analizados anteriormente estaban relacionados con una muestra de saliva, cabe señalar que pueden utilizarse para llevar a cabo análisis con otros tipos de muestra. Por ejemplo, pueden utilizarse para analizar muestras de sangre o torundas de saliva. En el primer caso, se realiza un pinchazo en el dedo y se recoge sangre con la torunda del recolector. Se lleva a cabo incubación durante un periodo más largo; por ejemplo, 20 minutos, con el fin de garantizar suficiente tiempo como para que el tampón se mezcle con la sangre y con los anticuerpos marcados.

35 **[0044]** Teniendo en cuenta también la geometría del pocillo de incubación 24, este está pensado para permitir que la muestra se mantenga y que los extremos de tira permanezcan sumergidos si se inclina el cartucho. La geometría para mantener la almohadilla 25 puede comprender una serie de nervios que, mediante la reducción de la cantidad de compresión de la almohadilla y mediante el mantenimiento de la almohadilla fuera del "suelo"

plano del pocillo 24, aumenten la rehidratación del reactivo y reduzcan las "bolsas" de material no rehidratado provocadas por el pinzamiento del material de almohadilla.

5 **[0045]** Con el fin de mejorar la eficiencia de la mezcla del tampón (que contiene la muestra de ensayo) y el anticuerpo marcado en el pocillo de incubación, puede hacerse vibrar el cartucho mediante un mecanismo adecuado en el sistema de lectura óptica. Alternativa o adicionalmente, el cartucho puede calentarse ligeramente para garantizar una temperatura de incubación óptima.

10 **[0046]** En la figura 9, se ilustra un diseño particular de un sistema de lectura óptica adecuado para leer datos de un cartucho desechable 20 del tipo descrito anteriormente (la figura 9 omite determinados componentes, incluidos los componentes ópticos y eléctricos del sistema). El sistema comprende una carcasa inferior 61 y una carcasa superior (no mostrada) que se une a la carcasa inferior para ofrecer un alojamiento de sistema sustancialmente cerrado. En la carcasa inferior 61 se sitúa un recipiente de cartucho 62. El recipiente 62 está configurado de tal forma que puede desplazarse en la carcasa 61 en el plano horizontal en una pequeña medida. El recipiente también puede desplazarse en el plano vertical. El movimiento es facilitado por un pequeño "motor" de inducción de vibración 63, fijado en la carcasa 61 y acoplado al recipiente 62. El recipiente 62 también
15 comprende un elemento calefactor 64 configurado de tal forma que, tras la inserción de un cartucho desechable 20, el elemento calefactor se sitúa por debajo de las tiras de ensayo. Tanto el elemento calefactor como el motor de inducción de vibración son controlados por el ordenador 57 descrito anteriormente.

20 **[0047]** El ordenador 57 puede configurarse para controlar el elemento calefactor y el motor de inducción de vibración con el fin de optimizar el ensayo de flujo lateral. Por ejemplo, estos componentes pueden controlarse para conseguir el precalentamiento de la tira de ensayo y/o reactivo antes de la inserción del recolector de muestra, el calentamiento del pocillo de incubación después de la inserción del recolector y la vibración del pocillo de incubación después de la inserción del recolector. Los momentos y las duraciones en los que se realizan estas etapas se determinan, por ejemplo, a partir de observaciones empíricas.

[0048] En la figura 10, se muestra un diagrama de flujo que ilustra el método descrito anteriormente.

25 **[0049]** Los expertos en la materia observarán que pueden hacerse diversas modificaciones a los modos de realización descritos anteriormente. Por ejemplo, la cápsula de tampón 32 puede dotarse de una zona debilitada en la que puede introducirse un extremo de una jeringa (es decir, sin requerir el acoplamiento de una aguja a la jeringa). Después de la finalización de un análisis mediante la utilización del sistema de lectura óptica descrito, el cartucho y el recolector pueden extraerse del sistema y enviarse a un laboratorio para realizar pruebas
30 adicionales. La muestra que permanece en el cartucho puede extraerse mediante la inserción de un extremo de jeringa a través de la porción debilitada de la cápsula.

35 **[0050]** El cartucho descrito anteriormente puede modificarse aún más con el fin de incluir un tercer hueco o lumen paralelo con el objetivo de conducir el fluido de muestra a un segundo pocillo de incubación, de tal forma que el cartucho facilita la realización de dos regímenes de prueba distintos (podrían proporcionarse pocillos distintos a cada lado del hueco principal 21 o un único pocillo podría dividirse en subpocillos independientes mediante un separador). Esto permite que se utilicen diferentes reactivos para diferentes conjuntos de ensayos múltiplex y soluciona los problemas potenciales de compatibilidad con reactivos que han de coexistir en un ensayo multipanel del formato preincubación. El cartucho también puede modificarse de tal forma que la capa de separación 26 se proporcione como una membrana soluble. Tras la inyección de fluido en el pocillo de
40 incubación 24, el reactivo se rehidrata y, durante un periodo definido, la capa de separación se disuelve. Tras la disolución de la capa de separación, los extremos de las tiras de ensayo entran en contacto con el fluido sin necesitar la paleta de activación 33.

45 **[0051]** De acuerdo con una modificación adicional del diseño descrito anteriormente, en lugar de colocar el reactivo directamente en el pocillo de incubación 24, este puede situarse en algún punto "aguas arriba" del pocillo. Por ejemplo, el reactivo seco puede situarse en la abertura 42 que conecta el hueco 21 con el pocillo de incubación 24 o puede unirse a la superficie exterior del cierre de papel de aluminio 32 cerrando el extremo de la cápsula de tampón 31. En tales modos de realización, el fluido de tampón liberado lava el reactivo seco y analito en el pocillo de incubación.

50 **[0052]** De acuerdo con otra modificación más del diseño descrito anteriormente, en lugar de hacer que los extremos de las tiras de ensayo 28 se doblen hacia el pocillo de incubación 24, la activación del activador 36 puede dar lugar a un movimiento lineal de las tiras de ensayo, de tal forma que se proyectan hacia el pocillo. Esto puede conseguirse montando las tiras de ensayo sobre un puente adecuadamente configurado en el cartucho 20.

55 **[0053]** De acuerdo con otra modificación más del diseño descrito anteriormente, el sistema puede configurarse para depender de otro elemento diferente de un mecanismo de detección óptico. Por ejemplo, pueden utilizarse enfoques de detección de campo magnético, detección electroquímica y otros enfoques de detección.

[0054] De acuerdo con otra modificación más del diseño descrito anteriormente, con el fin de ayudar a mezclar el fluido y el reactivo en el pocillo de incubación 24, una "pulga" compuesta por un material magnético puede

situarse en el pocillo de incubación 24. El sistema de lectura óptica está configurado para generar un campo magnético variable en el pocillo 24, de tal forma que se hace que la pulga se desplace dentro del pocillo. Un cartucho que incorpora esta característica de diseño se ilustra en sección transversal en la figura 11, en la que la pulga magnética es identificada mediante el número de referencia 65. En la figura 11, también se ilustra un par de bobinas con enganche de fase cilíndricas 66a, 66b. Los bobinados de bobina se forman sobre carretes a medida con espacio proporcionado para un núcleo metálico amplificador de campo. Dicho núcleo también puede permitir que la pulga se mantenga en una posición conocida mientras que las bobinas están inactivas, lo que impide que la pulga obstruya otros componentes, como la placa 34 y las tiras de ensayo 28. Las bobinas 66a, 66b, se proporcionan en el sistema de lectura óptica de tal forma que, tras la inserción del cartucho en el sistema, las bobinas se sitúan directamente por debajo del pocillo de incubación 24. Otras fuentes posibles de campo magnético variable son una bobina única con tensión de alimentación oscilante e imán permanente móvil.

REIVINDICACIONES

1. Método para llevar a cabo un inmunoensayo de flujo lateral usando una o más tiras de ensayo de flujo lateral, comprendiendo el método:
 - 5 precalentar la o cada tira de ensayo;
 - mezclar un analito con un líquido tampón;
 - hacer que el líquido mezclado fluya hacia una cámara de incubación que contiene o que recibe un reactivo; y
 - hacer que al menos una parte de la o de cada tira de ensayo entre en contacto con el fluido en la cámara, dando lugar al inicio del inmunoensayo de flujo lateral.

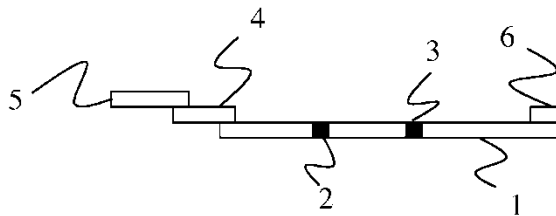


Figura 1

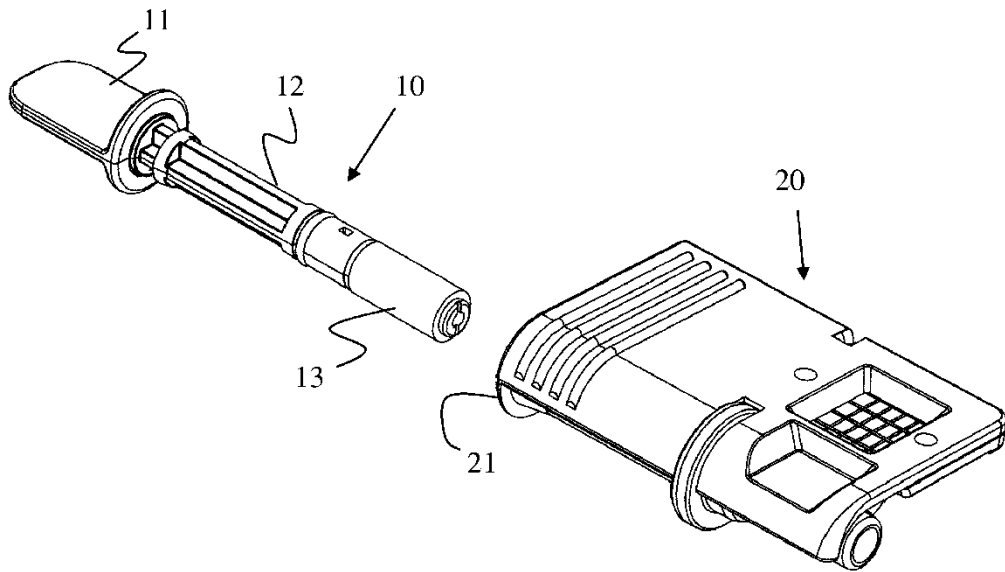


Figura 2

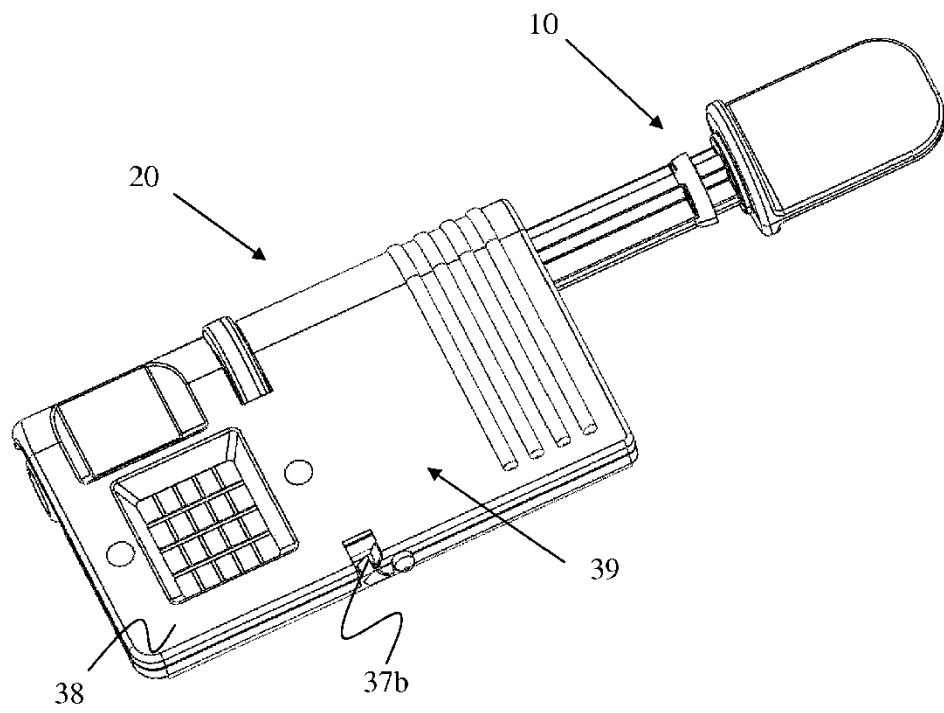


Figura 3

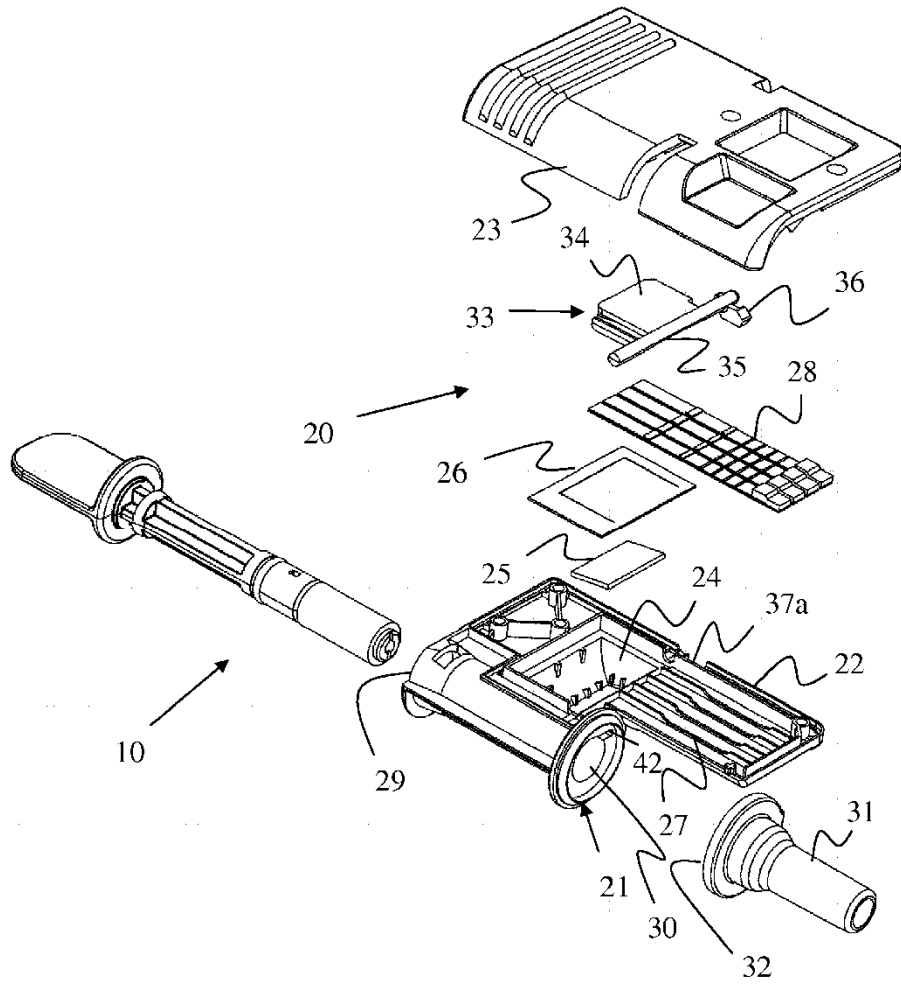


Figura 4

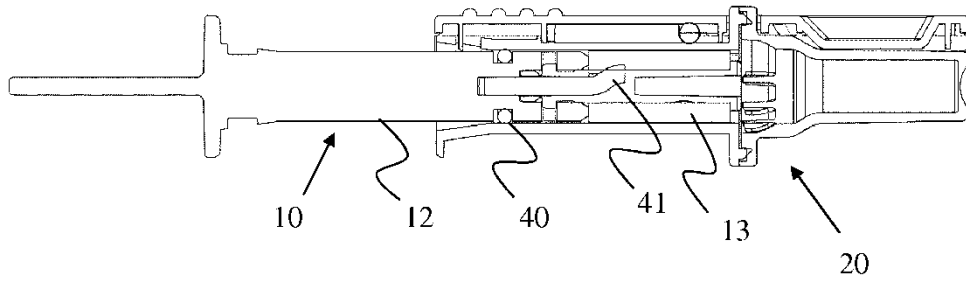


Figura 5

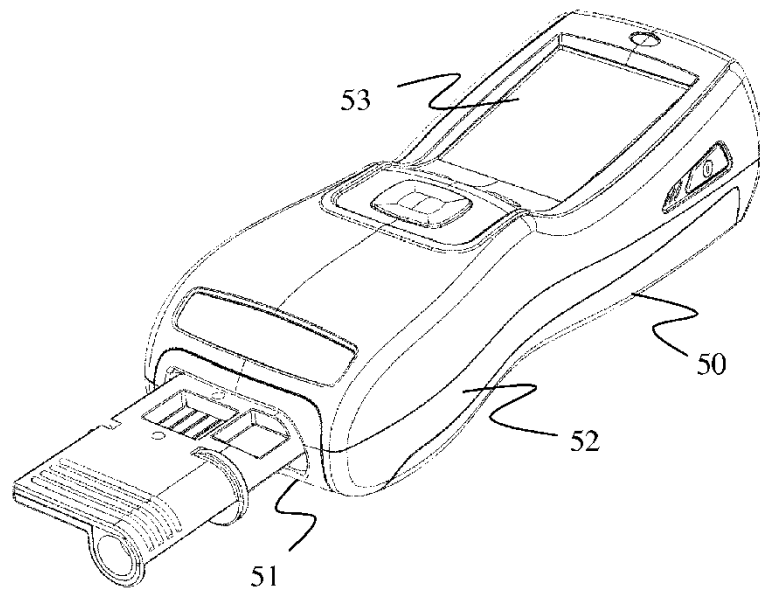


Figura 6

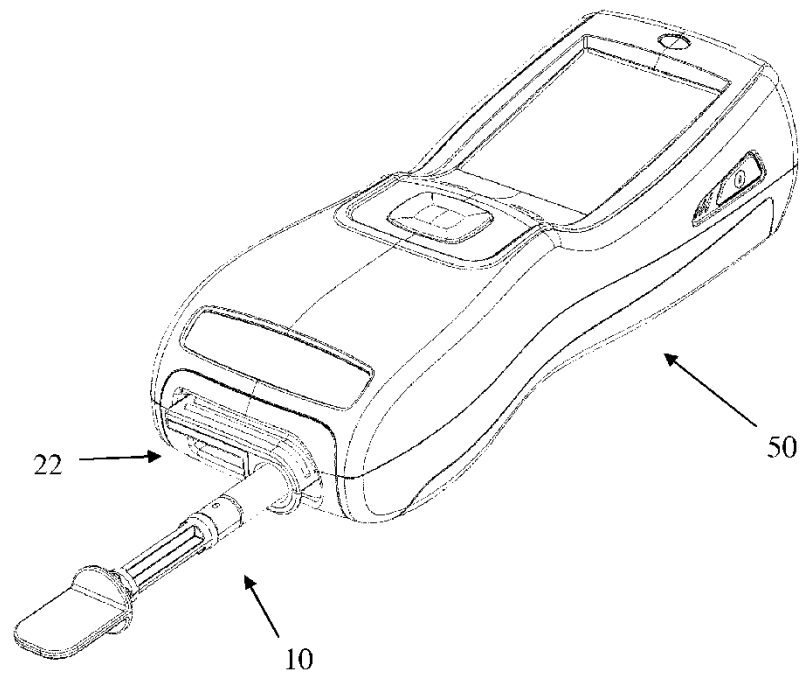


Figura 7

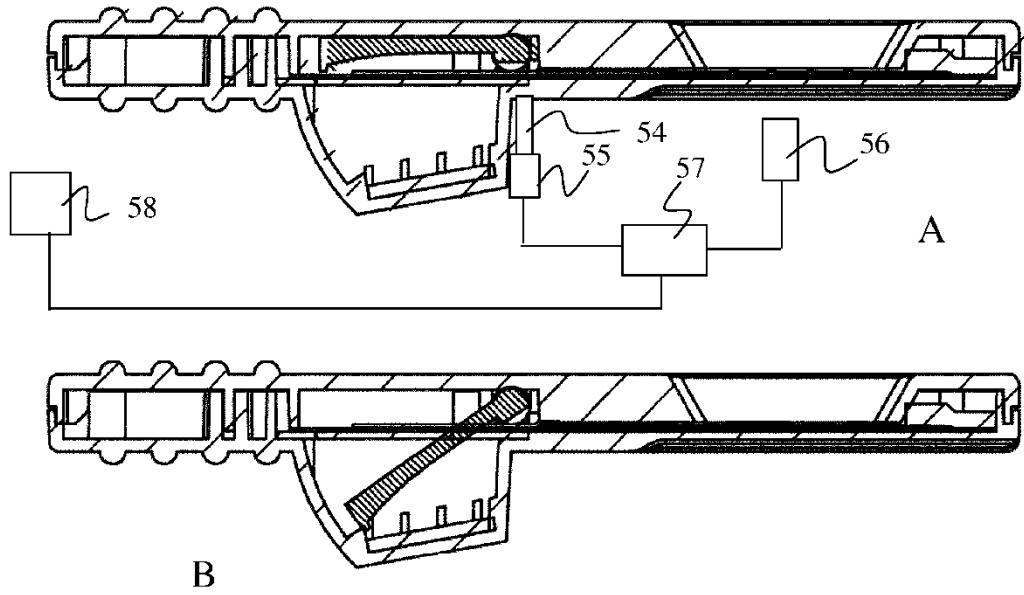


Figura 8

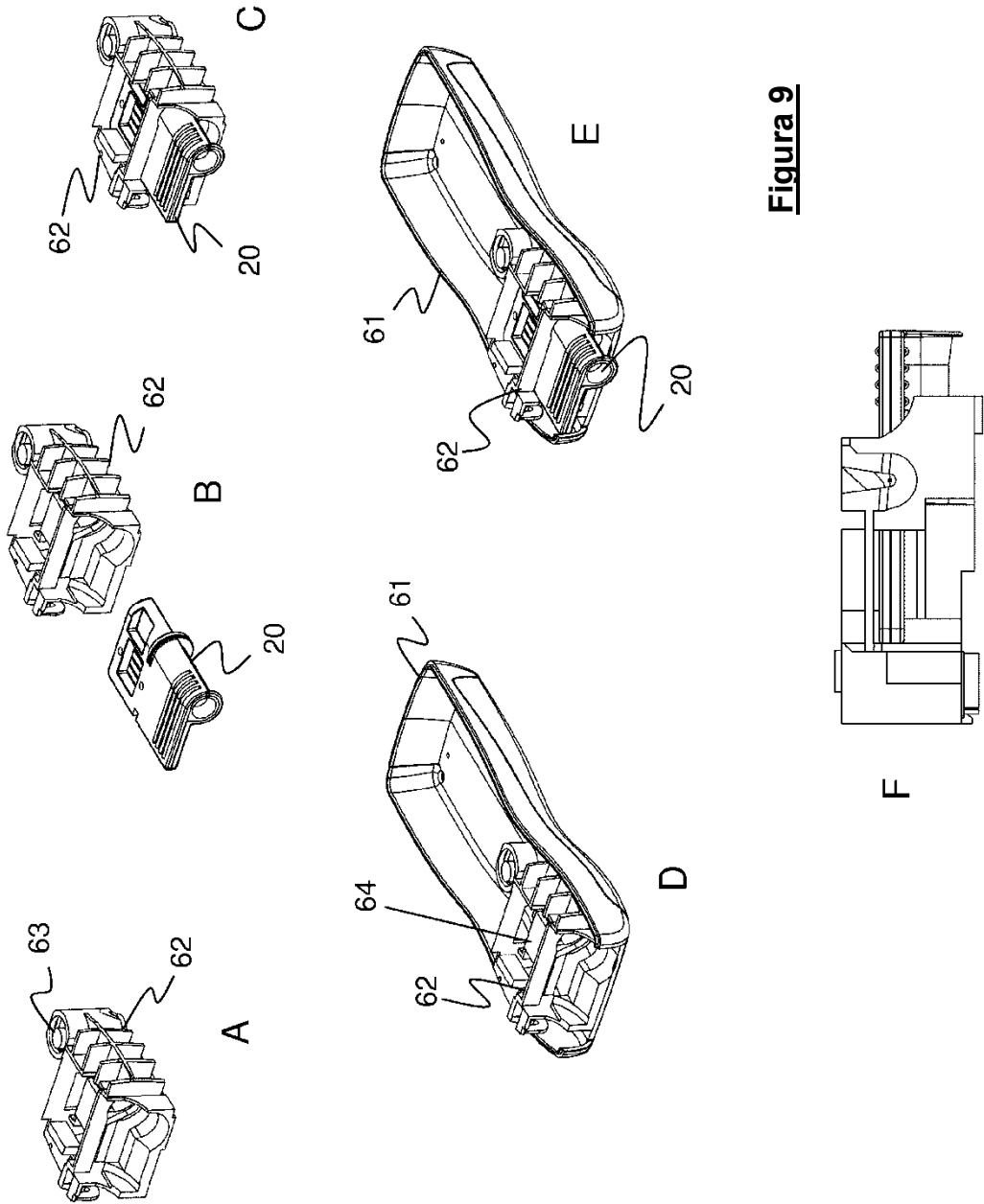


Figura 9

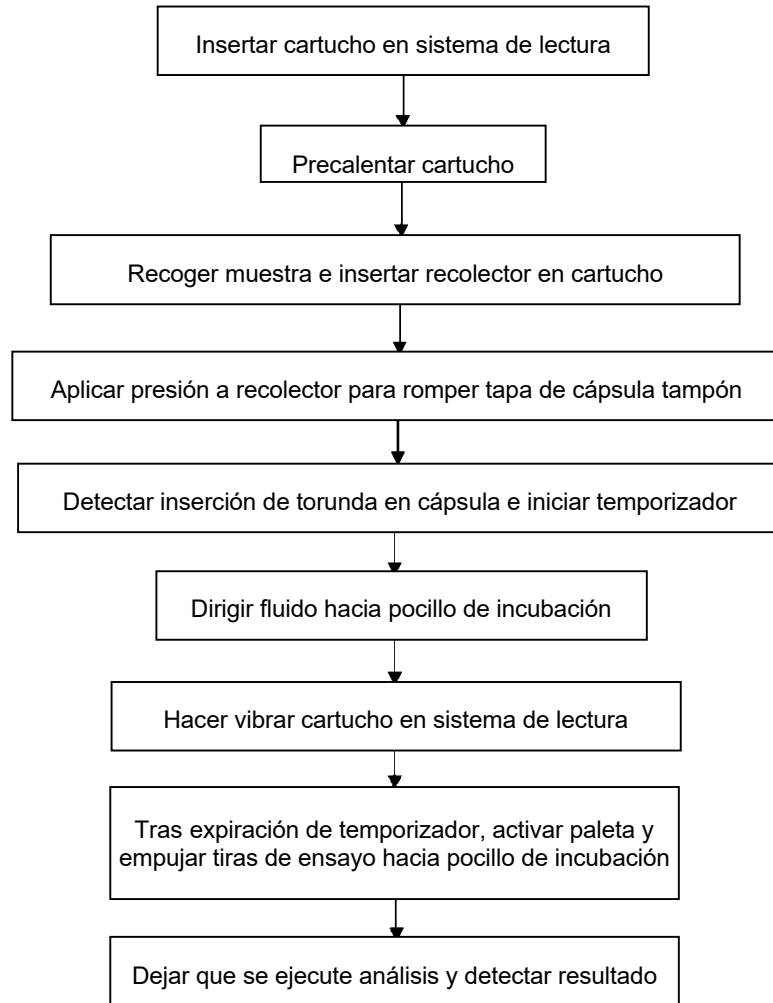


Figura 10

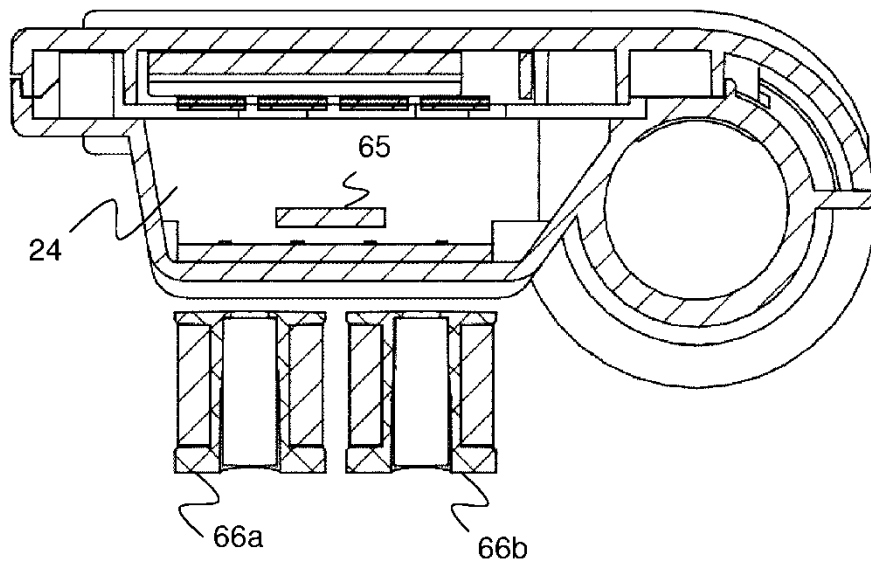


Figura 11