

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 756 124**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/333** (2006.01)

**G01N 33/487** (2006.01)

**G01N 33/543** (2006.01)

**G01N 33/558** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.12.2014 PCT/US2014/068808**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2015 WO15085181**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2014 E 14824208 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 3077806**

54 Título: **Dispositivo de ensayo que tiene un puerto de lavado**

30 Prioridad:

**06.12.2013 US 201361912673 P**

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

**27.04.2020**

73 Titular/es:

**ORTHO CLINICAL DIAGNOSTICS, INC. (100.0%)  
1001 U.S. Route 202  
Raritan, NJ 08869, US**

72 Inventor/es:

**JAKUBOWICZ, RAYMOND, F.**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 756 124 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Dispositivo de ensayo que tiene un puerto de lavado

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere al campo de los ensayos de diagnóstico, y en particular a los ensayos de flujo lateral donde está presente un analito a detectar en una muestra biológica o no biológica. La presente invención se refiere además a sistemas de lavado para ensayos de diagnóstico.

**Antecedentes**

10 Los ensayos de diagnóstico son generalizados y centrales para el diagnóstico, tratamiento y manejo de muchas enfermedades. Se han desarrollado diferentes tipos de ensayos de diagnóstico a lo largo de los años para simplificar la detección de diversos analitos en muestras clínicas como sangre, suero, plasma, orina, saliva, biopsias de tejido, heces, esputo, hisopos de piel o garganta y muestras de tejido o muestras de tejido procesado. Con frecuencia se espera que estos ensayos den un resultado rápido y confiable, a la vez que sean fáciles de usar y económicos de fabricar. Es comprensible que sea difícil cumplir con todos estos requisitos en un mismo ensayo. En la práctica, muchos ensayos están limitados por su velocidad. Otro parámetro importante es la sensibilidad. Los desarrollos recientes en  
15 la tecnología de análisis han llevado a pruebas cada vez más sensibles que permiten la detección de un analito en cantidades traza, así como la detección de indicadores de enfermedad en una muestra lo antes posible.

20 Un tipo común de dispositivo de ensayo desechable incluye una zona o área para recibir la muestra líquida, una zona conjugada también conocida como zona de reactivo y una zona de reacción también conocida como zona de detección. Estos dispositivos de ensayo se conocen comúnmente como tiras de prueba de flujo lateral. Emplean un material poroso, por ejemplo, nitrocelulosa, que define una ruta para el flujo de fluido capaz de soportar el flujo capilar. Los ejemplos incluyen los mostrados en las patentes de EE. UU. N.º 5.559.041, 5.714.389, 5.120.643 y 6.228.660.

25 La zona de adición de muestra con frecuencia consiste en un material más poroso, capaz de absorber la muestra y, cuando se desea la separación de las células sanguíneas, también es eficaz para atrapar los glóbulos rojos. Ejemplos de tales materiales son materiales fibrosos, tales como papel, vellón, gel o tejido, que comprenden, por ejemplo, celulosa, lana, fibra de vidrio, asbesto, fibras sintéticas, polímeros o mezclas de los mismos.

30 Otro tipo de dispositivo de ensayo es un ensayo no poroso que tiene proyecciones para inducir el flujo capilar. Ejemplos de tales dispositivos de ensayo incluyen el dispositivo de flujo lateral abierto como se describe en las publicaciones internacionales PCT N.º WO 2003/103835, WO 2005/089082, WO 2005/118139 y WO 2006/137785, la solicitud de patente de EE. UU. N.º 2013/273524, se refiere a dispositivos y métodos para realizar un recuento de sangre, células y/o patógenos en un punto de atención o una prueba sanguínea similar. Se describen dispositivos y sistemas microfluídicos que incorporan dichos dispositivos. Un puerto de lavado y una cámara de desechos se representan en las figuras y se mencionan en la reivindicación 13 de este documento.

35 Los dispositivos de ensayo descritos en las publicaciones anteriores incluyen típicamente al menos una zona de adición de muestra, una zona de reactivo, al menos una zona de detección y al menos una zona de absorción. Las zonas forman una ruta de flujo por la cual la muestra fluye desde la zona de adición de muestra a la zona de absorción. También se incluyen elementos de captura, tales como anticuerpos, en la zona de detección, capaces de unirse al analito, opcionalmente depositados en el dispositivo (tal como por recubrimiento); y un material conjugado marcado también capaz de participar en reacciones que permitirán la determinación de la concentración del analito, depositado en el dispositivo en la zona de reactivo, en donde el material conjugado marcado lleva una etiqueta para la detección  
40 en la zona de detección. El material conjugado se disuelve a medida que la muestra fluye a través de la zona de reactivo formando una columna de material conjugado marcado disuelto y una muestra que fluye de manera inversa a la zona de detección. A medida que el penacho conjugado fluye hacia la zona de detección, el material conjugado será capturado por los elementos de captura, tal como a través de un complejo de material conjugado y analito (como en un ensayo "sandwich") o directamente (como en un ensayo "competitivo"). El material conjugado disuelto no unido  
45 será barrido más allá de la zona de detección en la al menos una zona de absorción.

Un instrumento o lector como el descrito en las publicaciones de patentes de EE. UU. N.º US 20060289787A1 y US 20070231883A1, y las patentes de EE. UU. N.º 7.416.700 y 6.139.800, puede detectar el material conjugado unido en la zona de detección. Las etiquetas comunes incluyen tintes fluorescentes que pueden ser detectados por instrumentos que excitan los tintes fluorescentes e incorporan un detector capaz de detectar los tintes fluorescentes.

50 El tamaño de la muestra para tales dispositivos de ensayo típicos es generalmente del orden de 200 µl. Tal tamaño de muestra requiere una extracción de sangre venosa de un profesional médico tal como un flebotomista. Hay una necesidad creciente de dispositivos de flujo lateral que puedan funcionar con un tamaño de muestra mucho más pequeño para acomodar la cantidad de sangre disponible de una extracción de sangre llamada "punción del dedo", que es del orden de 25 µl o menos. Una cantidad tan pequeña de muestra es la cantidad de sangre en una gota de sangre después de pinchar la punta de un dedo con una lanceta. Los medidores de glucosa en sangre en el hogar generalmente usan una gota de sangre obtenida de tal manera para proporcionar niveles de glucosa en sangre. Un tamaño de muestra tan pequeño no requeriría que un profesional médico extraiga la sangre y proporcionaría una  
55

mayor comodidad a los pacientes que proporcionan la muestra para análisis.

Para algunos ensayos, particularmente los inmunoensayos, es importante que los reactivos productores de señales no unidas se eliminen de los reactivos productores de señales unidas antes de que un instrumento lea la zona de detección, tal como un fluorómetro. En los ensayos de flujo lateral, tales como los descritos anteriormente, la muestra que fluye en sí misma, a menudo se usa como fluido de lavado para eliminar el reactivo generador de señal no unido de la zona de detección. Sin embargo, en aquellos sistemas que están siendo diseñados para usar menos volumen de muestra, el uso de la muestra como lavado, después de la disolución del conjugado, se vuelve menos de una opción. En esos sistemas de volumen reducido, resulta deseable emplear un reactivo de lavado. La adición de un fluido de lavado para eliminar completamente los reactivos no unidos de la zona de reacción es una característica deseada en tales ensayos de flujo lateral de bajo volumen de muestra. Con el fin de lograr la sensibilidad o especificidad requerida, también puede ser necesario eliminar los materiales no unidos asociados con la muestra en sí que pueden proporcionar una señal inespecífica. Los fluidos de lavado generalmente se dispensan utilizando un sistema de medición que funciona durante una vida útil que puede ser de un solo uso, un día o hasta 3 meses. Dependiendo de la velocidad de utilización, los largos períodos de inactividad pueden crear problemas con los sistemas de lavado causados por la evaporación y el secado de las sondas, la acumulación de materiales sólidos en las sondas y las superficies circundantes. Estos problemas se describen con más detalle a continuación.

Los sistemas de lavado de inmunoensayo se componen típicamente de 1) depósitos de líquido para el almacenamiento a largo plazo de reactivos de lavado 2) bombas mecánicas para aspiración y dispensación de reactivos de lavado bajo control por ordenador y 3) sondas dispensadoras que permiten un posicionamiento físico preciso para la dispensación de reactivos de lavado. Las composiciones de reactivos de lavado pueden contener sales, proteínas, tensioactivos, desplazadores y otros sólidos (una formulación típica podría incluir solución salina tamponada con fosfato, BSA, TX-100 y ProClin 950). Esta composición puede ser problemática para el almacenamiento en el equipo a largo plazo, donde la utilización poco frecuente ofrece pocas oportunidades para volver a humedecer y purgar las sondas dispensadoras, como puede ser el caso de los dispositivos de punto de cuidado en los que se desea el almacenamiento del reactivo de lavado durante períodos de 3 meses. Estos sistemas de lavado son propensos a la evaporación de fluidos, lo que puede causar que la punta de la sonda de dispensación se seque, lo que lleva a la obstrucción de la punta de los orificios de la sonda de medición causada por la acumulación residual de sólidos de lavado después de la evaporación. Las disoluciones de lavado pueden concentrarse en la sonda y proporcionar gradientes de concentración significativos de lavado a lavado. Otro problema es que generalmente se formula un lavado común que tiene que funcionar para todos los ensayos y puede no ser óptimo para un ensayo individual. También existen oportunidades para usar reactivos que no sean reactivos de lavado para mejorar la salida de señal o crear otras reacciones inmunológicas de manera inversa de la zona de lavado. Aún otro problema es que una formulación de fluido de lavado no es estable durante largos períodos de tiempo y se requiere la separación de algunos de los componentes del fluido de lavado de otros.

## Sumario de la invención

La presente invención está dirigida a un dispositivo de ensayo que alivia uno o más de los problemas anteriores descritos anteriormente.

Un aspecto de la invención está dirigido a un elemento de prueba para un ensayo. El elemento de prueba incluye: un cartucho que tiene una carcasa que incluye una almohadilla de cebado capaz de contener un fluido líquido; un puerto de lavado que tiene una abertura en la carcasa; y una abertura para aplicar directa o indirectamente una muestra. El elemento de prueba incluye además un dispositivo de ensayo colocado dentro del cartucho en comunicación fluida con el puerto de lavado que contiene un reactivo analítico. En una realización preferida, el dispositivo de ensayo es un dispositivo de ensayo de flujo lateral.

Otro aspecto de la invención está dirigido a un sistema de punto de atención. El sistema de punto de atención incluye un elemento de prueba que tiene: un cartucho que tiene una carcasa que incluye una almohadilla de cebado capaz de contener un fluido líquido; un puerto de lavado que tiene una abertura en la carcasa; y una abertura para aplicar directa o indirectamente una muestra; y una porción de manipulación de muestra colocada dentro del cartucho en comunicación fluida con el puerto de lavado y que tiene un dispositivo de ensayo que contiene un reactivo analítico. El sistema de punto de atención incluye además: un sistema de medición que tiene una carcasa que tiene un puerto en el que se inserta el elemento de prueba, una fuente de energía óptica y un detector de energía óptica configurado para detectar una señal detectable del reactivo analítico; una sonda de lavado para dispensar un fluido líquido en el puerto de lavado; y una fuente de fluido líquido.

Todavía otro aspecto de la invención está dirigido a un método para añadir un fluido de lavado a un ensayo. El método incluye: proporcionar un elemento de prueba para un ensayo que incluye un cartucho que tiene una carcasa que incluye una almohadilla de cebado capaz de contener un fluido líquido, un puerto de lavado que tiene una abertura en la carcasa y una abertura para aplicar una muestra directa o indirectamente, y un dispositivo de ensayo colocado dentro del cartucho en comunicación fluida con el puerto de lavado que contiene un reactivo analítico; proporcionar una sonda de lavado; proporcionar una fuente de fluido líquido; posicionar la sonda de lavado sobre la almohadilla de cebado; dispensar una cantidad de fluido líquido sobre la almohadilla de cebado; posicionar la sonda de lavado sobre el puerto de lavado; y dispensar una cantidad seleccionada de fluido líquido en el puerto de lavado.

Otro aspecto más de la invención está dirigido a un método para realizar un ensayo en una muestra líquida para la detección de uno o más analito(s) de interés. El método incluye proporcionar un elemento de prueba para un ensayo. El elemento de prueba incluye: un cartucho que tiene una carcasa que incluye una almohadilla de cebado capaz de contener agua; un puerto de lavado que tiene un material capaz de soportar el flujo capilar; y una abertura para aplicar directa o indirectamente una muestra; y una porción de manipulación de muestra colocada dentro del cartucho en comunicación fluida con el puerto de lavado y que tiene un dispositivo de ensayo de flujo lateral que incluye una zona de muestra de líquido, una zona de reactivo de manera inversa y en comunicación fluida con la zona de adición de muestra que contiene un material reactivo, una zona de detección en comunicación fluida con la zona de reactivo, y una zona de absorción en comunicación fluida con la zona de detección que tiene una capacidad para recibir muestra líquida que fluye desde la zona de detección, en donde la zona de recepción de muestra, la zona de reactivo, la zona de detección y la zona de absorción define una ruta de flujo de fluido y al menos una parte de la ruta de flujo de fluido tiene un sustrato. El método incluye además: depositar una muestra líquida que contiene el(los) analito(s) de interés en la zona de muestra; mover la muestra por acción capilar a la zona de reactivo donde disuelve el material reactivo; hacer fluir la muestra fuera de la zona de reactivo que tiene un penacho de reactivo disuelto y hacia una zona de detección por acción capilar, donde el(los) analito(s) se detecta(n) al leer una señal que se genera para determinar la presencia o concentración de el(los) analito(s); hacer fluir la muestra y cualquier otro material no unido a la zona de absorción, en donde el método incluye además proporcionar una sonda de lavado; proporcionar una fuente de un fluido líquido; posicionar la sonda de lavado sobre la almohadilla de cebado; dispensar una cantidad del fluido líquido sobre la almohadilla de cebado; posicionar la sonda de lavado sobre el puerto de lavado; dispensar una cantidad seleccionada del fluido líquido en el puerto de lavado.

Objetos adicionales, características y ventajas de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración detallada de las realizaciones preferidas que siguen.

#### Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra una vista superior de un elemento de prueba según una realización preferida de la presente invención.

La figura 2 muestra una vista en corte de un elemento de prueba según una realización de la invención.

La Figura 3 muestra una vista en sección transversal a lo largo de las líneas 3-3 de la Figura 1.

La figura 4 muestra la vista de la figura 3 junto con una sonda dispensadora según una realización de la invención.

La figura 5 muestra la vista de la figura 3 junto con una sonda dispensadora según una realización de la invención.

La figura 6 muestra una sonda dispensadora de chorro de tinta según una realización de la invención.

La figura 7 muestra una realización de un dispositivo de ensayo utilizable en la presente invención.

La figura 8 muestra una realización de un dispositivo de ensayo según una realización de la presente invención.

Las figuras 9A y 9B muestran una representación esquemática de un lector utilizable en la presente invención, junto con su óptica de medición según una realización de la presente invención.

#### Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

El término "aproximadamente" tal como se usa en relación con un valor numérico a lo largo de la descripción y las reivindicaciones denota un intervalo de precisión, familiar y aceptable para un experto en la técnica. El intervalo es preferiblemente  $\pm 10\%$ .

El término "muestra" en la presente memoria significa un volumen de un líquido, disolución o suspensión, destinado a ser utilizado por un dispositivo de manipulación de muestras. En una realización preferida, la muestra se somete a una determinación cualitativa o cuantitativa de cualquiera de sus propiedades, tales como la presencia o ausencia de un componente, la concentración de un componente, etc. Las muestras típicas en el contexto de la presente invención son fluidos corporales humanas o animales como sangre, plasma, suero, linfa, orina, saliva, semen, líquido amniótico, líquido gástrico, flema, esputo, moco, lágrimas, heces, etc. Otros tipos de muestras se derivan de muestras de tejido humano o animal donde la muestra de tejido se ha procesado en un líquido, disolución o suspensión para revelar componentes de tejido particulares para su examen. Las realizaciones de la presente invención son aplicables a todas las muestras corporales, pero preferiblemente a muestras de sangre completa, orina o esputo.

En otros casos, la muestra puede estar relacionada con pruebas de alimentos, pruebas ambientales, pruebas de bioamenaza o riesgo biológico, etc. Este es solo un pequeño ejemplo de muestras que se pueden usar en la presente invención.

Las muestras no biológicas pueden ser acuosas o no acuosas, por ejemplo, muestras de aguas residuales para pruebas ambientales y disoluciones que tienen disolventes orgánicos, como alcoholes para procesamiento químico. Un aspecto de la invención está dirigido a un dispositivo de recolección de muestras para recolectar una muestra, tal como una muestra de sangre o a base de sangre, y entregarla a un dispositivo de manipulación de muestras que supera al menos algunas de las desventajas de los dispositivos de recolección de muestras conocidos.

Un aspecto de la presente invención proporciona un elemento de prueba que puede ser parte de un sistema de lavado líquido que incluye un depósito de agua pura sin sólidos añadidos que permite el almacenamiento durante largos períodos de tiempo sin obstrucción. También proporciona la rehidratación de los sólidos para uso, como parte del elemento de prueba y permite la purga y el cebado de un solo uso del sistema de lavado en un área absorbente (es decir, una almohadilla de cebado) contenida dentro de la carcasa del consumible (es decir, el cartucho) y se elimina con la eliminación del elemento de prueba al finalizar la prueba. No se requiere limpieza interna. Otro aspecto de la invención proporciona un elemento de prueba que puede ser parte de un sistema de lavado líquido que incluye un depósito de disolución de lavado premezclada junto con la almohadilla de cebado. En otro aspecto, la presente invención proporciona un sistema de lavado líquido que incluye un fluido de lavado líquido que se combina con sólidos para disolverse cuando se expone al fluido de lavado líquido para formar una formulación de fluido de lavado completo.

La figura 1 muestra una vista superior de un elemento de prueba 10 que tiene una carcasa 11 según una realización preferida. El elemento de prueba incluye una abertura de adición de muestra 20, un puerto de lavado 30 y una almohadilla de cebado 40. Las posiciones de estas características del elemento de prueba con respecto al dispositivo de ensayo 50 se muestran en la vista en corte en la Figura 2. Las características adicionales del dispositivo de ensayo se describen a continuación.

La Figura 3 muestra una vista en corte de la Figura 1 a lo largo de las líneas 3-3. En esta realización, la abertura de adición de muestra 20 permite que la muestra se aplique directamente al dispositivo de ensayo. En el caso de la sangre completa, se puede proporcionar un filtro para separar los glóbulos rojos del plasma antes del dispositivo de ensayo 40. La muestra también se puede aplicar indirectamente, tal como a través de un dispositivo extraíble de recolección de muestras como se describe en el documento EP 2 777 499 titulado ROTABLE FLUID SAMPLE COLLECTION DEVICE

La almohadilla de cebado 40 es capaz de contener un fluido líquido tal como agua o un fluido de lavado, tal como se describió anteriormente. La almohadilla de cebado contiene preferiblemente un material esponjoso o absorbente que absorbe el fluido líquido, como tal como nitrocelulosa, fibras de algodón, papel (por ejemplo, papel de 3 mm Whatman.RTM, y productos Filtrona.RTM.), materiales poliméricos sintéticos (por ejemplo, nitrocelulosa, nylon), plásticos y esferas plásticas (por ejemplo, cuentas de plástico Porex.RTM; materiales utilizados en la fabricación de bolígrafos), tales como los de polipropileno, polietileno, fluoruro de polivinilideno, acetato de vinilo de etileno, acrilonitrilo y politetrafluoroetileno. Otros ejemplos no limitantes incluyen nanopartículas/esferas/tubos.

Se puede usar cualquier material absorbible siempre que sea capaz de retener el fluido de lavado líquido en una cantidad suficiente para purgar la sonda dispensadora de fluido líquido que se describe con más detalle a continuación.

El puerto de lavado 30 es una abertura en la carcasa del cartucho 11 para aplicar el fluido líquido tal como desde una sonda dispensadora. El puerto de lavado puede ser simplemente una abertura en el cartucho 11, o puede tener paredes laterales 31 que se extienden en la dirección hacia el dispositivo de ensayo, tal como el dispositivo de ensayo para formar una columna que puede contener el material de filtro opcional. En una realización preferida, el puerto de lavado incluye un material capaz de soportar el flujo capilar 32, tal como un material de filtro. El material del filtro puede impregnarse con diversos materiales de lavado, reactivos, tensioactivos y puede recubrirse con recubrimientos hidrófilos para mejorar el flujo en el filtro. Ejemplos de materiales pueden incluir agentes antihemolíticos tales como aminoácidos (por ejemplo, glicina o histidina), tensioactivos no hemolíticos, no iónicos, tampones, tales como citrato, etc. El material del filtro del puerto de lavado puede recubrirse en su lugar (es decir, ya en el puerto de lavado) en la superficie superior usando chorro de tinta o procesos similares. Alternativamente, el filtro puede recubrirse a granel durante el proceso de fabricación del elemento de prueba e insertarse en el puerto de lavado según sea necesario. En otra realización, el puerto de lavado puede ser simplemente una estructura sin filtro pero con revestimiento en las paredes de la columna formada. Las paredes de la columna pueden contener características para soportar los materiales recubiertos. En todavía otra realización, algunos o todos los materiales de recubrimiento pueden recubrirse en el propio dispositivo de ensayo.

Si no se requiere lavado para un ensayo dado, o si el fluido líquido que se está distribuyendo mediante la sonda dispensadora es un fluido de lavado prefabricado que se describe más detalladamente a continuación, el filtro no se inserta y el puerto de lavado se deja en blanco.

En otra realización, el elemento de prueba puede contener dos o más puertos de lavado. Por ejemplo, en el caso de un dispositivo de ensayo, un puerto de lavado podría colocarse entre la zona de reactivo y la zona de detección para ayudar a eliminar los reactivos no unidos de la zona de detección, mientras que el otro puerto de lavado podría colocarse antes de la zona de muestra para ayudar en empujando la muestra desde la zona de muestra hacia el resto del dispositivo de ensayo. En otra realización, el otro puerto de lavado podría colocarse inmediatamente después de la zona de muestra para detener el flujo de muestra si se desea.

En una realización preferida, la capacidad del puerto de lavado puede contener el volumen de suministro completo deseado, o el sistema de lavado puede aplicar fluido discretamente durante algún intervalo de tiempo. La velocidad de flujo típica de la ruta de flujo del dispositivo de ensayo es de aproximadamente 1,0  $\mu\text{L}$  por minuto. La ruta de flujo controla la absorción del fluido de lavado desde el puerto de lavado a esta velocidad, lo que permite un tiempo suficiente para que los sólidos (secados y almacenados en el puerto de lavado, tal como en el filtro) se disuelvan en el líquido de lavado y en el canal de flujo. El líquido de lavado es forzado a entrar en contacto con la trayectoria del flujo por gravedad y por la presión de la cabeza del fluido en la columna del puerto de lavado.

Según otro aspecto de la invención, también se proporciona una sonda dispensadora para dispensar un fluido líquido sobre el puerto de lavado. Una sonda dispensadora esquemática 60 se muestra en las Figuras 4 y 5. Las sondas dispensadoras para dispensar fluidos, tales como muestras o fluidos de lavado, son generalmente bien conocidas en la técnica como se describe en las patentes de EE. UU. N.º 6.484.556, 5.133.392, 4.794.085, 5.142.849 y 5.665.601. La sonda dispensadora incluye una fuente de fluido líquido 61, tal como una cámara de depósito, y una bomba 62, tal como una bomba de pistón giratorio. La sonda también puede incluir un sistema de accionamiento de sonda 63 para mover la sonda en una dirección x e y como se muestra en la Figura 5. Esto permite que la sonda se mueva desde la almohadilla de cebado 40 al puerto de lavado 30 y cualquier otra posición requerida. Alternativamente, la sonda puede ser estacionaria y el elemento de prueba se puede mover para colocar el puerto de lavado y la almohadilla de cebado debajo de la sonda.

Como se señaló anteriormente, la fuente de fluido líquido puede ser agua o un fluido de lavado premezclado. En el caso de un reactivo premezclado, se puede utilizar una sonda dispensadora particularmente útil en forma de impresora de chorro de tinta. En esta realización, los cartuchos de chorro de tinta separados que contienen diferentes fluidos de lavado para diferentes ensayos pueden usarse indistintamente con un cabezal de impresión común, es decir, una sonda dispensadora, dependiendo del ensayo que se esté realizando. Una configuración de tipo de chorro de tinta preferida se muestra en la Figura 6. Como se muestra en la Figura 6, se puede usar una cámara de depósito desmontable 61 con la boquilla de chorro de tinta 60.

El elemento de prueba también incluye un dispositivo de ensayo. Con frecuencia se espera que estos ensayos den un resultado rápido y confiable, a la vez que sean fáciles de usar y económicos de fabricar.

Ejemplos de ensayos de diagnóstico incluyen, pero no se limitan a, la determinación de analitos, también llamados marcadores, específicos para diferentes trastornos, por ejemplo, trastornos metabólicos crónicos, como glucosa en sangre, cetonas en sangre, glucosa en orina (diabetes), colesterol en sangre (aterosclerosis, obesidad, etc.); marcadores de otras enfermedades específicas, por ejemplo, enfermedades agudas, como marcadores de infarto coronario (por ejemplo, troponina-T, NT-ProBNP), marcadores de la función tiroidea (por ejemplo, determinación de la hormona estimulante de la tiroides (TSH)), marcadores de infecciones virales (el uso de inmunoensayos de flujo lateral para la detección de anticuerpos virales específicos); etc.

Otro campo importante más es el campo del diagnóstico complementario donde un agente terapéutico, tal como un fármaco, se administra a un individuo que necesita dicho fármaco. Después se realiza un ensayo apropiado para determinar el nivel de un marcador apropiado para determinar si el fármaco está teniendo el efecto deseado. Alternativamente, el dispositivo de ensayo de la presente invención puede usarse antes de la administración de un agente terapéutico para determinar si el agente ayudará al individuo que lo necesita.

Otro campo importante más es el de las pruebas de fármacos, para la detección fácil y rápida de fármacos y metabolitos de fármacos que indican abuso de fármacos; tales como la determinación de fármacos específicos y metabolitos de fármacos (por ejemplo, THC) en muestras de orina, etc.

El término "analito" se usa como sinónimo del término "marcador" y pretende abarcar cualquier sustancia química o biológica que se mida cuantitativa o cualitativamente y puede incluir moléculas pequeñas, proteínas, anticuerpos, ADN, ARN, ácidos nucleicos, componentes de virus o virus intactos, componentes bacterianos o bacterias intactas, componentes celulares o células intactas y complejos y derivados de los mismos.

El término "reacción" se usa para definir cualquier reacción, que tiene lugar entre los componentes de una muestra y al menos un reactivo o reactivos en el sustrato, o entre dos o más componentes presentes en la muestra. El término "reacción" se usa en particular para definir la reacción, que tiene lugar entre un analito y un reactivo como parte de la determinación cualitativa o cuantitativa del analito.

El término "sustrato" significa el vehículo o matriz al que se añade una muestra, y en el que se realiza la determinación, o donde tiene lugar la reacción entre el analito y el reactivo.

Un tipo común de dispositivo de ensayo desechable incluye una zona o área para recibir la muestra líquida, una zona conjugada también conocida como zona de reactivo y una zona de reacción también conocida como zona de detección. Estos dispositivos de ensayo se conocen comúnmente como tiras de prueba de flujo lateral. Emplean un material poroso, por ejemplo, nitrocelulosa, que define una ruta para el flujo de fluido capaz de soportar el flujo capilar. Los ejemplos incluyen los mostrados en las patentes de EE. UU. N.º 5.559.041, 5.714.389, 5.120.643 y 6.228.660.

La zona de adición de muestra con frecuencia consiste en un material más poroso, capaz de absorber la muestra y,

cuando se desea la separación de las células sanguíneas, también es eficaz para atrapar los glóbulos rojos. Ejemplos de tales materiales son materiales fibrosos, tales como papel, vellón, gel o tejido, que comprenden, por ejemplo, celulosa, lana, fibra de vidrio, asbesto, fibras sintéticas, polímeros o mezclas de los mismos.

5 Otro tipo de dispositivo de ensayo es un ensayo no poroso que tiene proyecciones para inducir el flujo capilar. Ejemplos de tales dispositivos de ensayo incluyen el dispositivo de flujo lateral abierto como se describe en los documentos WO 2003/103835, WO 2005/089082, WO 2005/118139 y WO 2006/137785.

10 Un dispositivo de ensayo no poroso 50 se muestra en la Figura 7. El dispositivo de ensayo 1 tiene al menos una zona de adición de muestra 2, una zona de reactivo 3, al menos una zona de detección 4 y al menos una zona de absorción 5. Las zonas forman una ruta de flujo por la cual la muestra fluye desde la zona de adición de muestra a la zona de absorción. También se incluyen elementos de captura, tales como anticuerpos, en la zona de detección 4, capaces de unirse al analito, opcionalmente depositados en el dispositivo (tal como por recubrimiento); y un material conjugado marcado también capaz de participar en reacciones que permitirán la determinación de la concentración del analito, depositado en el dispositivo en la zona de reactivo, en donde el material conjugado marcado lleva una etiqueta para la detección en la zona de detección. El material conjugado se disuelve a medida que la muestra fluye a través de la zona de reactivo formando una columna de material conjugado marcado disuelto y una muestra que fluye de manera inversa a la zona de detección. A medida que el penacho conjugado fluye hacia la zona de detección, el material conjugado será capturado por los elementos de captura, como a través de un complejo de material conjugado y analito (como en un ensayo "sandwich") o directamente (como en un ensayo "competitivo"). El material conjugado disuelto no unido será barrido más allá de la zona de detección en la al menos una zona de absorción 5.

20 La figura 8 muestra una vista esquemática de otro dispositivo de ensayo de flujo lateral preferido 50. El dispositivo de ensayo 100 tiene al menos una zona de muestra (también denominada zona de adición de muestra) 200, al menos una zona de reactivo 300, al menos una zona de detección 400 y al menos una zona de absorción 500. Las zonas forman una ruta de flujo por la cual la muestra fluye desde la zona de adición de muestra a la zona de absorción.

25 Los componentes del dispositivo de ensayo y cualquier otra parte del elemento de trabajo (es decir, una estructura física del dispositivo, ya sea una pieza discreta de otras partes del dispositivo) se pueden preparar a partir de copolímeros, mezclas, laminados, láminas metalizadas, películas metalizadas o metales. En una realización particularmente preferida, el dispositivo de ensayo se moldea por inyección a partir de un polímero de ciclo olefina, tal como los vendidos con el nombre de Zeonor®. Las técnicas de moldeo por inyección preferidas se describen en las patentes de EE. UU. N.º 6.372.542, 6.733.682, 6.811.736, 6.884.370 y 6.733.682.

30 La ruta de flujo puede incluir rutas abiertas o cerradas, surcos y capilares. Preferiblemente, la ruta de flujo comprende una ruta de flujo lateral de proyecciones adyacentes, que tiene un tamaño, forma y espaciado mutuo de manera que el flujo capilar se mantiene a través de la ruta de flujo. En una realización, la ruta de flujo está en un canal dentro del sustrato que tiene una superficie inferior y paredes laterales. En esta realización, las proyecciones sobresalen de la superficie inferior del canal. Las paredes laterales pueden o no contribuir a la acción capilar del líquido. Si las paredes laterales no contribuyen a la acción capilar del líquido, entonces se puede proporcionar un espacio entre las proyecciones más externas y las paredes laterales para mantener el líquido contenido en la ruta de flujo definida por las proyecciones. La Figura 7 muestra las proyecciones 7.

35 En una realización, la ruta de flujo está al menos parcialmente abierta. En otra realización, la ruta de flujo está completamente abierta. Abierto significa que no hay tapa o cubierta a una distancia capilar. Por lo tanto, la cubierta, si está presente como protección física para la ruta de flujo, no contribuye al flujo capilar en la ruta de flujo. Una ruta de flujo lateral abierta se describe, por ejemplo, en las siguientes solicitudes publicadas: WO 2003/103835, WO 2005/089082; WO 2005/118139; WO 2006/137785; y WO 2007/149042. Las proyecciones tienen una altura (H), diámetro (D) y una distancia o distancias entre las proyecciones ( $t_1$ ,  $t_2$ ) de tal manera que se logra el flujo capilar lateral del fluido, tal como plasma, preferiblemente plasma humano, en la zona. Estas dimensiones se muestran en el documento US 2006/0285996, que se incorpora como referencia en su totalidad. Además de optimizar la altura, el diámetro y una distancia o distancias mencionados anteriormente entre las proyecciones, las proyecciones pueden recibir una funcionalidad química, biológica o física deseada, por ejemplo, modificando la superficie de las proyecciones. En una realización, las proyecciones tienen una altura en el intervalo de aproximadamente 15 a aproximadamente 150  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , un diámetro de aproximadamente 10 a aproximadamente 160  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de 40 a aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , y un espacio o espacios entre las proyecciones de aproximadamente 3 a aproximadamente 200  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de 5 a aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  o de 10 a 50  $\mu\text{m}$  entre sí. El canal de flujo puede tener una longitud de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mm, preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mm, y un ancho de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 10 mm, preferiblemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 3 mm, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a 1,5 y preferiblemente aproximadamente 0,5 a 1,2 mm.

60 Si bien la mayor parte de la detección ocurrirá en la porción de la zona de detección de la ruta del flujo de fluido, también es posible que la detección pueda ocurrir en otras partes del dispositivo. Por ejemplo, pueden realizarse mediciones de integridad de muestra no invasivas y no reactivas entre la zona de muestra y la zona de reactivo o la zona de adición de reactivo, preferiblemente después de un elemento de filtro, si está presente. Otras mediciones pueden incluir lecturas en blanco, una parte de una secuencia de reacción de dos partes como para medir tanto la

hemoglobina como la hemoglobina glucosilada para la determinación de HbA1c, etc.

La zona de muestra líquida 200, también denominada zona de adición de muestra líquida, recibe la muestra directa o indirectamente. La zona de adición de muestra es capaz de transportar la muestra líquida desde el punto donde la muestra se deposita en la zona de reactivo, a través de un filtro opcional y una zona de adición de reactivo, preferiblemente a través del flujo capilar. La estructura inductora del flujo capilar puede incluir materiales porosos, tales como nitrocelulosa, o preferiblemente a través de proyecciones, como micropilares, como se muestra en la Figura 7. En aquellos dispositivos que pueden usar volúmenes de sangre de punción del dedo, la muestra puede extraerse directamente del dedo o con una pipeta capilar.

Ubicada entre la zona de adición de muestra y la zona de detección hay una zona de reactivo 300. La zona de reactivo puede incluir material(es) reactivo(s) integrado(s) en el elemento analítico y generalmente son reactivos útiles en la reacción: compañeros de unión tales como anticuerpos o antígenos para inmunoensayos, sustratos para ensayos enzimáticos, sondas para ensayos de diagnóstico molecular o son materiales auxiliares tales como materiales que estabilizan los reactivos integrados, materiales que suprimen las reacciones interferentes, etc. Generalmente, uno de los reactivos útiles en la reacción lleva una señal detectable como se describe a continuación. En algunos casos, los reactivos pueden reaccionar con el analito directamente o a través de una cascada de reacciones para formar una señal detectable, tal como, pero sin restringirse a, una molécula detectable mediante espectroscopía, tal como una molécula coloreada o fluorescente. En una realización preferida, la zona de reactivo incluye material conjugado. El término conjugado significa cualquier resto que tenga tanto un elemento de detección como un compañero de unión.

El elemento de detección es un agente que es detectable con respecto a su distribución física y/o la intensidad de la señal que entrega, tal como, pero sin limitarse a, moléculas luminiscentes (por ejemplo, agentes fluorescentes, agentes fosforescentes, agentes quimioluminiscentes, agentes bioluminiscentes y similares), moléculas coloreadas, moléculas que producen colores tras la reacción, enzimas, radioisótopos, ligandos que exhiben unión específica y similares. El elemento de detección también denominado etiqueta se elige preferiblemente de cromóforos, fluoróforos, etiquetas radiactivas y enzimas. Las etiquetas adecuadas están disponibles de proveedores comerciales, que proporcionan un amplio intervalo de tintes para el etiquetado de anticuerpos, proteínas y ácidos nucleicos. Hay, por ejemplo, fluoróforos que abarcan prácticamente todo el espectro visible e infrarrojo. Las etiquetas fluorescentes o fosforescentes adecuadas incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a, fluoresceínas, Cy3, Cy5 y similares. Las etiquetas quimioluminiscentes adecuadas son, por ejemplo, pero sin limitarse a, luminol, cialume y similares.

De manera similar, las etiquetas radiactivas están disponibles comercialmente, o los elementos de detección pueden sintetizarse para que incorporen una etiqueta radioactiva. Las etiquetas radioactivas adecuadas son, por ejemplo, pero sin limitarse a, yodo radiactivo y fósforo; por ejemplo,  $^{125}\text{I}$  y  $^{32}\text{P}$ .

Las etiquetas enzimáticas adecuadas son, por ejemplo, pero sin limitarse a, peroxidasa de rábano picante, beta-galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina y similares. Dos etiquetas son "distinguibiles" cuando pueden detectarse individualmente y preferiblemente cuantificarse simultáneamente, sin perturbarse, interferirse o inactivarse significativamente entre sí. Se pueden usar dos o más etiquetas, por ejemplo, cuando se detectan múltiples analitos o marcadores.

El compañero de unión es un material que puede formar un complejo que puede usarse para determinar la presencia o la cantidad de un analito. Por ejemplo, en un ensayo "sandwich", el compañero de unión en el conjugado puede formar un complejo que incluye el analito y el conjugado y ese complejo puede unirse adicionalmente a otro compañero de unión, también llamado elemento de captura, integrado en la zona de detección. En un inmunoensayo competitivo, el analito interferirá con la unión del compañero de unión en el conjugado a otro compañero de unión, también llamado elemento de captura, integrado en la zona de detección. Ejemplos de compañeros de unión incluidos en los conjugados incluyen anticuerpos, antígenos, analitos o imitadores de analitos, proteínas, etc.

Opcionalmente ubicado en la ruta de flujo de fluido, antes o después de la zona de reactivo y antes de la zona de detección, hay una zona de adición de reactivo. La zona de adición de reactivo se muestra como 350 en la Figura 8. La zona de adición de reactivo puede permitir la adición de un reactivo externamente desde el dispositivo. Por ejemplo, la zona de adición de reactivo se puede usar para añadir un reactivo de interrupción que se puede usar para lavar la muestra y otros componentes no unidos presentes en la ruta del flujo de fluido hacia la zona de absorción. En una realización preferida, la zona de adición de reactivo 350 está situada después de la zona de reactivo 300.

De manera inversa de la zona de muestra líquida y la zona de reactivo está la zona de detección 400 que está en comunicación fluida con la zona de adición de muestra. La zona de detección 400 puede incluir proyecciones tales como las descritas anteriormente. Como también se señaló anteriormente, estas proyecciones se moldean preferiblemente de manera integral en el sustrato a partir de un material plástico óptico tal como Zeonor, tal como moldeado por inyección o estampación. El ancho del canal de flujo en la zona de detección es típicamente del orden de 2 mm para dispositivos de tamaño convencional, sin embargo, algunos dispositivos de menor volumen, tales como los descritos anteriormente, son significativamente más estrechos, por ejemplo, 1,5 mm o menos, preferiblemente de 0,5 a 1,2 mm.

La zona de detección es donde se lee cualquier señal detectable. En una realización preferida unida a las proyecciones

en la zona de detección hay elementos de captura. Los elementos de captura pueden incluir parejas de unión para el conjugado o complejos que contienen el conjugado, como se describió anteriormente. Por ejemplo, si el analito es una proteína específica, el conjugado puede ser un anticuerpo que se unirá específicamente a esa proteína acoplada a un elemento de detección, tal como una sonda de fluorescencia. El elemento de captura podría ser otro anticuerpo que también se una específicamente a esa proteína. En otro ejemplo, si el marcador o analito es ADN, la molécula de captura puede ser, pero sin limitarse a, oligonucleótidos sintéticos, análogos de los mismos o anticuerpos específicos. Otros elementos de captura adecuados incluyen anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, aptámeros y secuencias de ácido nucleico, específicos para el analito a detectar. Un ejemplo no limitante de un elemento de captura adecuado es una molécula que lleva la funcionalidad de avidina que se uniría a un conjugado que contenga una funcionalidad de biotina. La zona de detección puede incluir zonas de detección múltiple. Las zonas de detección múltiple se pueden usar para ensayos que incluyen uno o más marcadores. En el caso de múltiples zonas de detección, los elementos de captura pueden incluir múltiples elementos de captura, como el primer y el segundo elementos de captura. El conjugado puede depositarse previamente en el dispositivo de ensayo, tal como recubriendo en la zona de reactivo. De manera similar, los elementos de captura pueden depositarse previamente en el dispositivo de ensayo en la zona de detección. Preferiblemente, tanto los elementos de detección como de captura se depositan previamente en el dispositivo de ensayo, en la zona de detección y la zona de detección, respectivamente.

Después de que la muestra se haya entregado a la zona de muestra, se encontrará con la zona de reactivo. Después de que la muestra haya fluido e interactuado con la zona de reactivo y, opcionalmente, la zona de adición de reactivos, la muestra y un penacho de reactivos estarán contenidos en el flujo de fluido. El penacho de reactivo puede contener cualquiera de los materiales reactivos que se han disuelto en la zona de detección o aquellos añadidos a través de la zona de adición de reactivo. El reactivo en la muestra que fluye desde la zona de reactivo, pero antes de la zona de adición de reactivo se considera un penacho de reactivo. El penacho de reactivo puede incluir el conjugado que tiene tanto el elemento de detección como el compañero de unión, en cuyo caso a menudo se denomina penacho conjugado. Es en la zona de detección donde generalmente se requiere un proceso de lavado.

De manera inversa de la zona de detección hay una zona de absorción 500 en comunicación fluida con la zona de detección. La zona de absorción es un área del dispositivo de ensayo con la capacidad de recibir muestra líquida y cualquier otro material en la ruta de flujo, por ejemplo, reactivos no unidos, líquidos de lavado, etc. La zona de absorción proporciona una fuerza capilar para continuar moviendo la muestra líquida a través y fuera de la zona de detección. La zona de absorción puede incluir un material poroso tal como la nitrocelulosa o puede ser una estructura no porosa como las proyecciones descritas en la presente memoria. La zona de absorción también puede incluir medios de conducción de fluidos no capilares, tales como el uso de calentamiento por evaporación o una bomba. Se pueden encontrar detalles adicionales de las zonas de absorción como se usan en los dispositivos de ensayo según la presente invención en las publicaciones de patentes US 2005/0042766 y US 2006/0239859. Las zonas de absorción también se describen en la solicitud de patente en tramitación titulada "Controlling Fluid Flow Through An Assay Device", EP 2 618 153.

Preferiblemente, la totalidad de la ruta de flujo que incluye la zona de adición de muestra, la zona de detección y la zona de absorción incluye proyecciones sustancialmente verticales en relación con el sustrato, y que tienen una altura, diámetro y espacio recíproco capaces de crear flujo lateral de la muestra en la ruta de flujo.

El dispositivo de ensayo de la presente invención puede usarse con un dispositivo para leer (un lector o dispositivo de medición) el resultado de un dispositivo de ensayo realizado en el ensayo de la presente invención. El lector incluye medios para leer una señal emitida o reflejada por el elemento de detección, tal como un fotodetector, y medios para calcular la señal y mostrar un resultado, tal como un microprocesador que puede incluirse dentro de un lector integrado o en un ordenador separado. Se describen lectores adecuados, por ejemplo, en el documento US 2007/0231883 y en la patente de EE. UU. N.º 7.416.700.

Otra realización es un dispositivo para leer el resultado de un ensayo realizado en un dispositivo de ensayo, en donde el dispositivo comprende un detector capaz de leer una señal emitida o reflejada por al menos un elemento de detección presente en una ubicación definida del dispositivo de ensayo. En cualquiera de las realizaciones anteriores, la lectura se elige preferiblemente de la detección y/o cuantificación de color, fluorescencia, radiactividad o actividad enzimática.

Otro aspecto de la invención incluye un sistema de punto de atención (POC) para realizar ensayos de diagnóstico. Un sistema POC es un sistema que incluye un lector que es del tamaño de un ordenador de escritorio o más pequeño y se usa típicamente en la consulta de un médico o en la sala de urgencias de un hospital. El sistema POC incluye el elemento de prueba descrito anteriormente que contiene el cartucho que tiene la almohadilla de cebado, el puerto de lavado y la abertura para aplicar una muestra y el dispositivo de ensayo colocado dentro del cartucho.

Además, el sistema POC incluye un sistema de medición. Tal sistema de medición o lector 600 como se muestra esquemáticamente en la Figura 9A e incluye una carcasa que tiene un puerto 610 que acepta el elemento de prueba antes o después de que se haya añadido la muestra. Se proporciona una fuente de energía óptica 620, tal como un diodo láser o LED, capaz de dirigir energía, tal como luz visible al reactivo analítico en el elemento de prueba como se muestra esquemáticamente en la Figura 9B. El sistema de medición también incluye un detector 630 que está configurado para detectar una señal detectable desde el dispositivo de ensayo 100.

También parte del sistema POC es la sonda dispensadora de fluido líquido y una fuente de fluido líquido como se muestra en conexión con las Figuras 3-5. Preferiblemente, la sonda dispensadora es una parte integral del sistema de medición y está controlada por el microprocesador que controla los otros aspectos del sistema como es bien conocido en la técnica.

5 Otro aspecto de la invención está dirigido a un método de lavado de un ensayo que incluye proporcionar el elemento de prueba y el sistema de sonda descrito anteriormente. La sonda dispensadora se coloca sobre la almohadilla de cebado. Después, la sonda dispensa una cantidad suficiente de fluido líquido sobre la almohadilla de cebado, en una cantidad suficiente para cebar adecuadamente la sonda. Las ventajas de dispensar primero en la sonda son dobles. Primero, puede haber residuos secos en la sonda que resultan de que la sonda se seque al menos parcialmente entre  
10 usos, particularmente si hay un suficiente tiempo entre dispensaciones. Al cebar primero la sonda, el residuo seco se disolverá y dispensará en la almohadilla de cebado y no afectará los resultados del ensayo. Segundo, el secado parcial de la sonda puede resultar en un volumen de dispensación incorrecto. Por ejemplo, si una sonda tiene un volumen interno de 10 ul y si se ha secado completamente de modo que no quede fluido, y si el volumen de dispensación para el lavado es 10 ul, entonces cuando la bomba intente dispensar los 10 ul, no se dispensará ninguno en el puerto de  
15 lavado porque todos los 10 ul se usan para rellenar la sonda. Al cebar la sonda, la sonda se "reinicia" para que el volumen de dispensación previsto se pueda entregar al dispositivo de ensayo.

La almohadilla de cebado, que contiene preferiblemente un material absorbente como se describió anteriormente, es capaz de retener el fluido líquido dispensado, y retendrá el fluido sin derramar incluso cuando el elemento de prueba se retira del sistema de medición y posteriormente se desecha. Después de cebar, la sonda se mueve en una posición  
20 sobre el puerto de lavado donde se dispensa una cantidad seleccionada previamente de fluido líquido al puerto de lavado y al dispositivo de ensayo.

La invención también incluye un método para realizar un ensayo en una muestra líquida para la detección de uno o más analito(s) de interés. Una muestra líquida que contiene el(los) analito(s) de interés se aplica al elemento de prueba para comenzar el procesamiento de la prueba. Después, el elemento de prueba se inserta en el sistema de medición que contiene los elementos de detección y el sistema de lavado descritos anteriormente. Alternativamente, la muestra también se puede aplicar al elemento de prueba después de que el elemento de prueba se haya insertado en el sistema de medición. La muestra se dispensa en la zona de muestra del dispositivo de ensayo. Si la muestra es sangre completa, primero se puede filtrar la sangre completa mediante el filtro de muestra, separando así los glóbulos rojos del plasma y proporcionando una fuente de plasma al dispositivo de ensayo. Sin embargo, en algunas realizaciones, puede ser posible usar sangre completa en el ensayo, evitando la necesidad de un filtro separado.  
25  
30

La muestra se mueve por acción capilar hacia la zona de reactivo donde encuentra materiales reactivos, por ejemplo, conjugado etiquetado. La muestra fluye más allá del material reactivo, disolviendo el material reactivo formando un penacho de reactivos.

A continuación, la muestra y el penacho de reactivos se mueven por acción capilar hacia la zona de detección. Allí se produce una señal representativa de la presencia o concentración de el(los) analitos o controles. En una realización preferida, la muestra o el uno o más reactivos que tienen un elemento de detección se captura en la zona de detección, tal como por anticuerpos en la superficie de la zona de detección y se produce una señal representativa de la presencia o concentración de el(los) analito(s) o control(es).  
35

El lector como se describió anteriormente se usa para leer la señal producida por el elemento de detección para determinar la presencia o concentración de el(los) analito(s). La muestra se mueve desde la zona de detección hacia la zona de absorción. El lector puede leer la señal inmediatamente o poco tiempo después de que la muestra se haya movido a través de la zona de detección.  
40

Además, uno o más lavados pueden seguir la muestra a través del dispositivo para lavar cualquier elemento de detección no unido fuera de la zona de detección. En este caso, la muestra fluye debajo del puerto de lavado, preferiblemente sin entrar en contacto con el material del filtro en el puerto de lavado como se describió anteriormente. El protocolo de ensayo para el ensayo particular determina la finalización de la disolución del conjugado y prepara el sistema de lavado para añadir fluido líquido al puerto de lavado. El elemento de prueba incorpora la almohadilla de cebado que permite que el sistema de lavado se cebe antes de iniciar el lavado. La almohadilla puede contener un volumen de líquido suficiente para purgar la sonda y establecer la medición de referencia antes de cada uso. La almohadilla permite que el fluido dispensado durante el cebado sea contenido durante la duración de la prueba, después de lo cual se expulsa del analizador con el elemento de prueba gastado. Una vez que se completa la purga y se determina la necesidad del evento de lavado. El elemento y/o la sonda se colocan en el puerto de lavado donde el sistema de lavado dispensa agua desionizada o un fluido de lavado mezclado previamente en el puerto de lavado a través de la sonda dispensadora. El volumen se determina mediante cada protocolo de lavado de ensayo específico y puede variar de 1,0 a 10,0 µL. La capacidad del puerto de lavado puede contener el volumen de suministro completo deseado o el sistema de lavado puede aplicar fluido discretamente durante un intervalo de tiempo como se describe anteriormente.  
45  
50  
55

**REIVINDICACIONES**

1. Un elemento de prueba para un ensayo que comprende:  
un cartucho que tiene una carcasa que comprende una almohadilla de cebado capaz de contener un fluido líquido;  
un puerto de lavado que tiene una abertura en la carcasa; y  
5 una abertura para aplicar directa o indirectamente una muestra; y  
un dispositivo de ensayo colocado dentro del cartucho en comunicación fluida con el puerto de lavado que contiene un reactivo analítico, en donde el dispositivo de ensayo es un dispositivo de ensayo de flujo lateral;  
caracterizado por que la almohadilla de cebado es capaz de retener el fluido líquido dispensado, y retendrá el fluido sin derrame; y  
10 en donde la almohadilla de cebado no está en comunicación fluida con el dispositivo de ensayo.
2. Un elemento de prueba según la reivindicación 1, en donde la almohadilla de cebado comprende un material esponjoso capaz de absorber un fluido líquido.
3. Un elemento de prueba según la reivindicación 1 o 2, en donde el puerto de lavado comprende un material capaz de soportar el flujo capilar.
- 15 4. Un elemento de prueba según la reivindicación 3, que comprende además un reactivo seco sobre el material capaz de soportar el flujo capilar.
5. Un elemento de prueba según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el puerto de lavado comprende dos o más puertos de lavado.
- 20 6. Un elemento de prueba según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el dispositivo de ensayo de flujo lateral comprende:  
una zona de adición de muestra líquida;  
una zona de reactivo de manera inversa y en comunicación fluida con la zona de adición de muestra que contiene un material reactivo;  
una zona de detección en comunicación fluida con la zona de reactivo que tiene elementos de captura unidos a la misma; y  
25 una zona de absorción en comunicación fluida con la zona de detección que tiene la capacidad de recibir una muestra líquida que fluye desde la zona de detección, en donde la zona de adición de muestra, la zona de reactivo, la zona de detección y la zona de absorción definen una ruta de flujo de fluido, y que además comprende una zona de adición de reactivo a lo largo y en comunicación fluida con la ruta de flujo de fluido de manera inversa de la zona de adición de muestra y de manera directa de la zona de detección.  
30
7. Un elemento de prueba según la reivindicación 6, donde al menos una parte de la ruta de flujo de fluido tiene una superficie de sustrato y proyecciones que se extienden sustancialmente verticalmente desde la superficie del sustrato, en donde las proyecciones tienen una altura, una sección transversal y una distancia entre sí que define un espacio entre las proyecciones capaz de generar flujo capilar paralelo a la superficie del sustrato.
- 35 8. Un elemento de prueba según la reivindicación 6 o 7, donde al menos una parte de la ruta de flujo de fluido tiene una superficie de sustrato y un medio poroso capaz de generar flujo capilar paralelo a la superficie del sustrato.
9. Un sistema de lavado para un ensayo de diagnóstico, que comprende:  
un elemento de prueba según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8; y  
una sonda dispensadora para dispensar un fluido líquido en el puerto de lavado.
- 40 10. Un sistema de lavado según la reivindicación 9, en donde la sonda dispensadora es un cabezal de impresión de chorro de tinta.
11. Un sistema de punto de atención que comprende:  
un elemento de prueba según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además:  
una porción de manipulación de muestra colocada dentro del cartucho en comunicación fluida con el puerto de lavado y que tiene un dispositivo de ensayo que contiene un reactivo analítico; y  
45

un sistema de medición que comprende:

una carcasa que tiene un puerto en el que se inserta el elemento de prueba;

una fuente de energía óptica;

un detector de energía óptica configurado para detectar una señal detectable del reactivo analítico;

5 una sonda de lavado para dispensar un fluido líquido en el puerto de lavado; y

una fuente de fluido líquido.

12. Un sistema de punto de atención según la reivindicación 11, en donde la sonda dispensadora es un cabezal de impresión de chorro de tinta.

13. Un método para añadir un líquido de lavado a un ensayo, que comprende:

10 proporcionar un elemento de prueba según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el método comprende además proporcionar una sonda de lavado;

proporcionar una fuente de fluido líquido;

posicionar la sonda de lavado sobre la almohadilla de cebado;

dispensar una cantidad de fluido líquido sobre la almohadilla de cebado;

15 posicionar la sonda de lavado sobre el puerto de lavado; y

dispensar una cantidad seleccionada de fluido líquido en el puerto de lavado.

14. Un método para realizar un ensayo en una muestra líquida para la detección de uno o más analito(s) de interés, que comprende:

20 proporcionar un elemento de prueba según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el elemento de prueba comprende además una porción de manipulación de muestra colocada dentro del cartucho en comunicación fluida con el puerto de lavado y que tiene un dispositivo de ensayo de flujo lateral que comprende:

una zona de muestra líquida;

una zona de reactivo de manera inversa y en comunicación fluida con la zona de adición de muestra que contiene un material reactivo;

25 una zona de detección en comunicación fluida con la zona de reactivo; y

una zona de absorción en comunicación fluida con la zona de detección que tiene una capacidad para recibir la muestra líquida que fluye desde la zona de detección, en donde la zona de recepción de muestra, la zona de reactivo, la zona de detección y la zona de absorción definen una ruta de flujo de fluido y al menos una parte de la ruta de flujo de fluido tiene un sustrato;

30 depositar una muestra líquida que contiene el(los) analito(s) de interés en la zona de muestra;

mover la muestra por acción capilar a la zona de reactivo donde disuelve el material reactivo;

hacer fluir la muestra fuera de la zona de reactivo que tiene un penacho de reactivos disueltos y hacia una zona de detección por acción capilar, donde el(los) analito(s) se detecta(n) leyendo una señal que se genera para determinar la presencia o concentración de el(los) analito(s);

35 hacer fluir la muestra y cualquier otro material no unido a la zona de absorción, en donde el método comprende además proporcionar una sonda de lavado;

proporcionar una fuente de un fluido líquido;

posicionar la sonda de lavado sobre la almohadilla de cebado;

dispensar una cantidad del fluido líquido sobre la almohadilla de cebado;

40 posicionar la sonda de lavado sobre el puerto de lavado; y

dispensar una cantidad seleccionada del fluido líquido en el puerto de lavado.

15. Un método según la reivindicación 14, en donde al menos una parte de la ruta de flujo de fluido incluye

proyecciones que se extienden sustancialmente verticalmente desde el sustrato, en donde las proyecciones tienen una altura, sección transversal y una distancia entre sí que define un espacio entre proyecciones capaces de generar flujo capilar paralelo a la superficie del sustrato.

FIG. 1

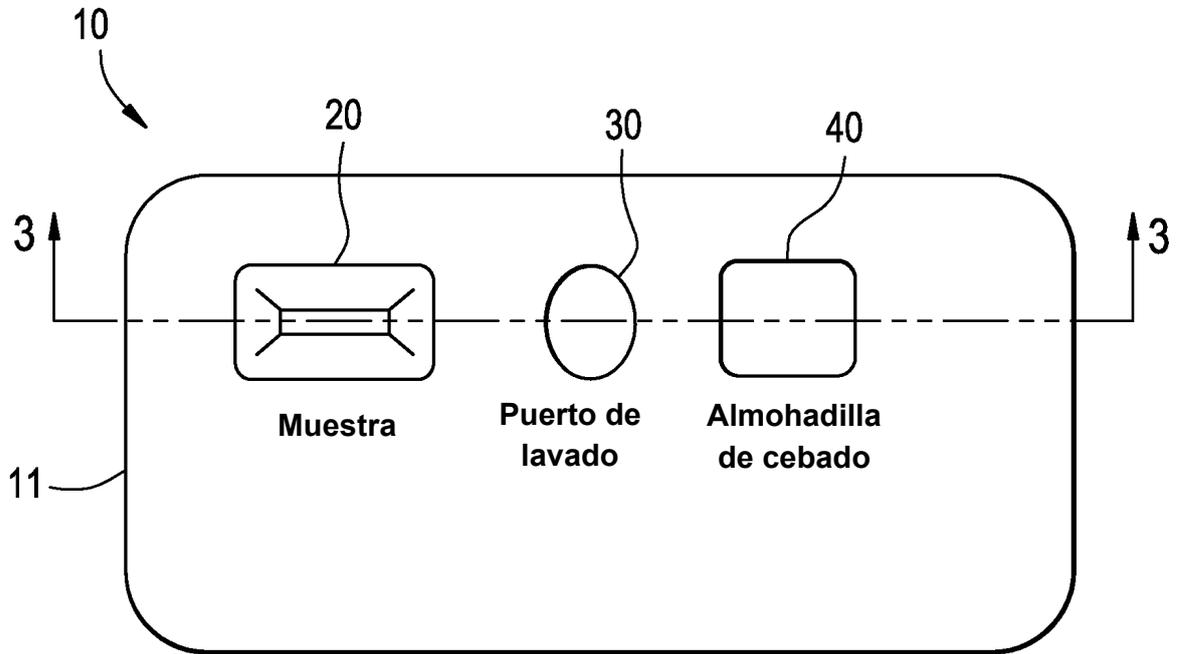


FIG. 2

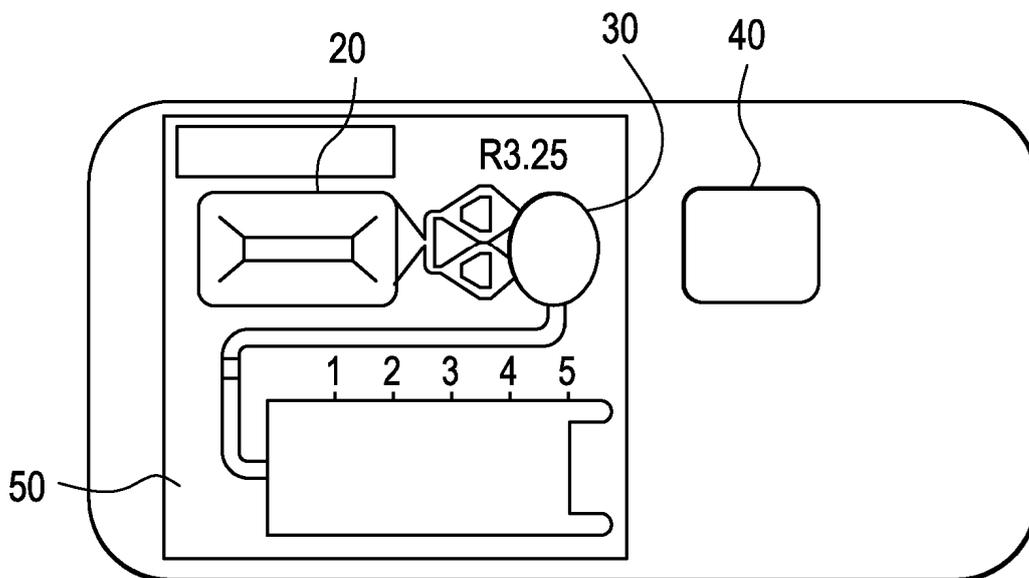


FIG. 3

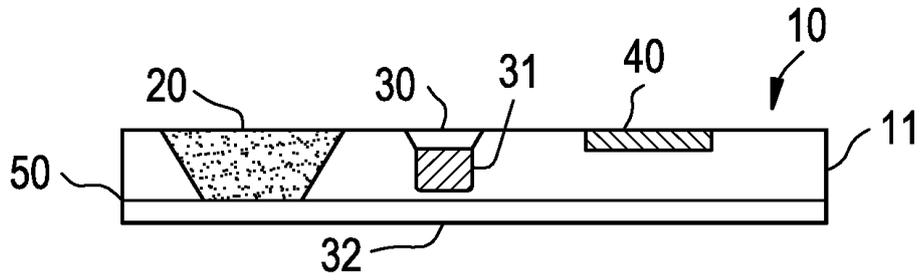


FIG. 4

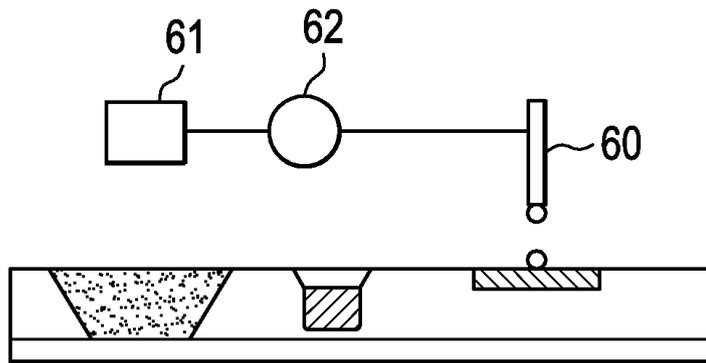


FIG. 5

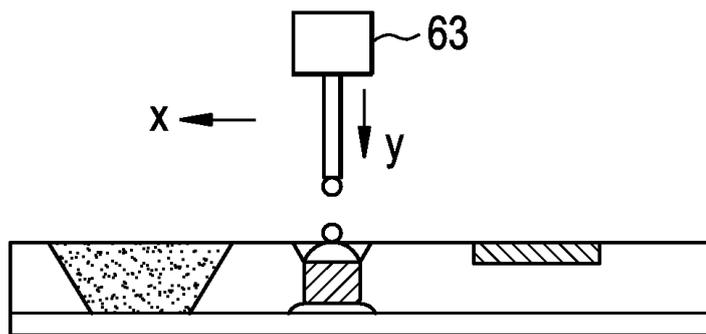


FIG. 6

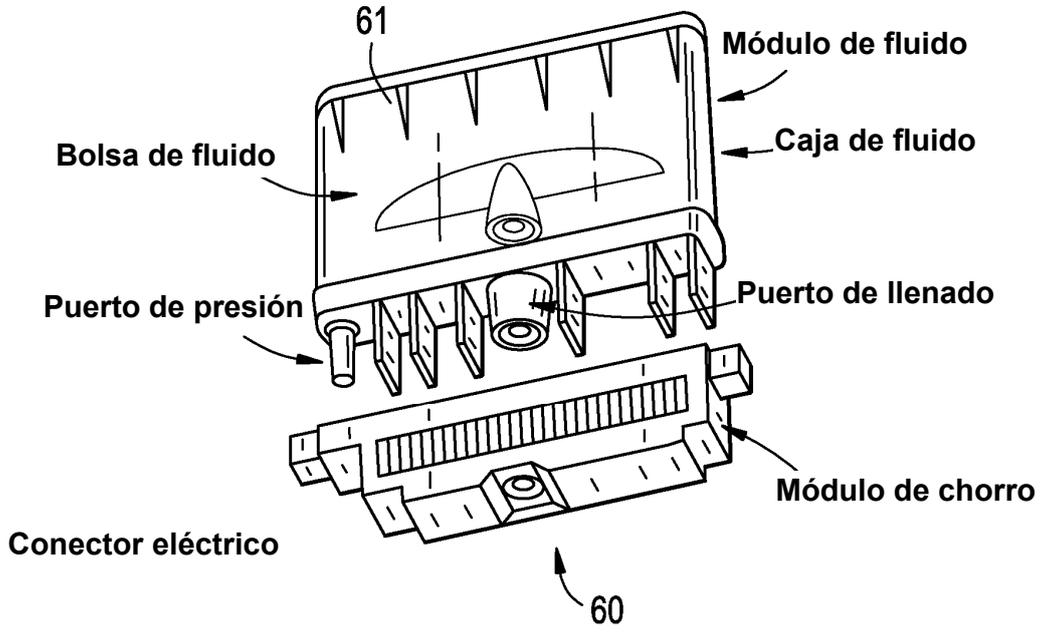


FIG. 7

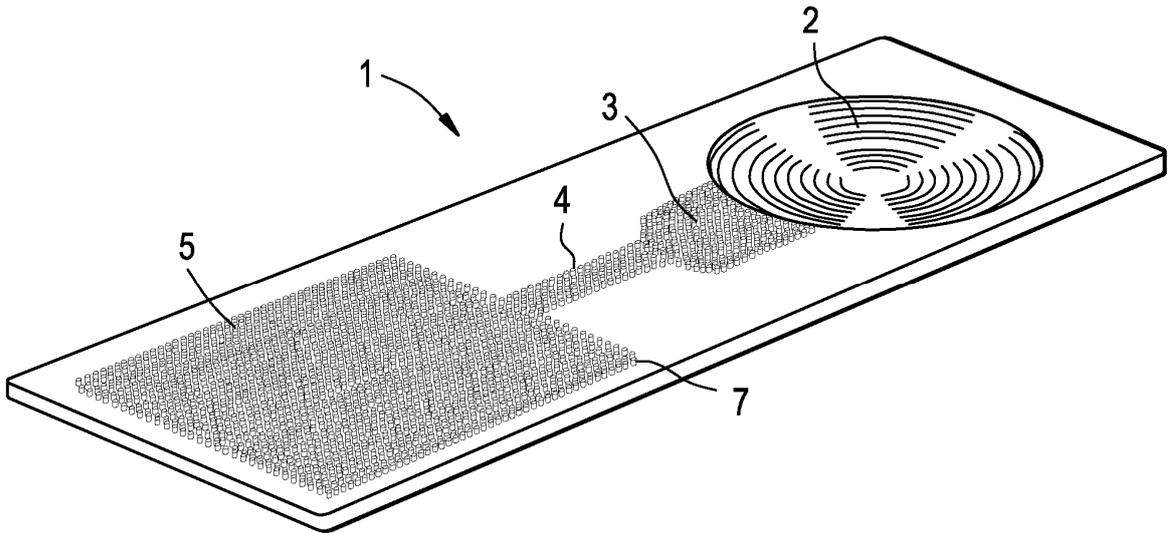


FIG. 8

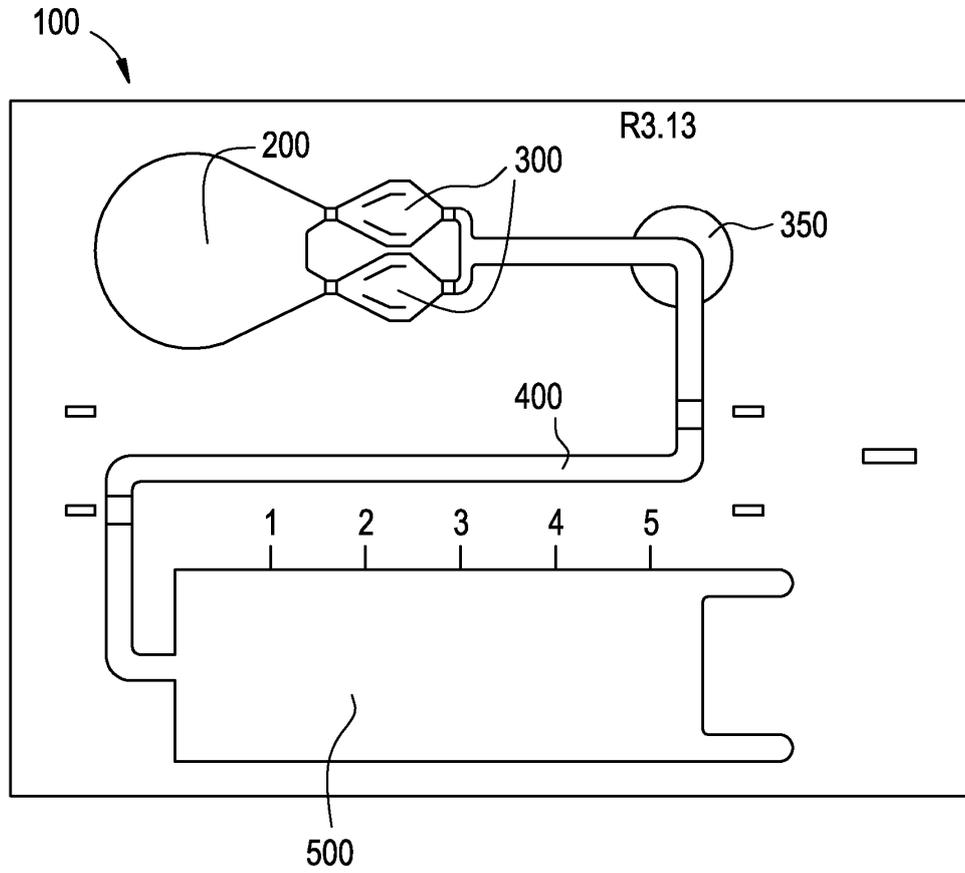


FIG. 9A

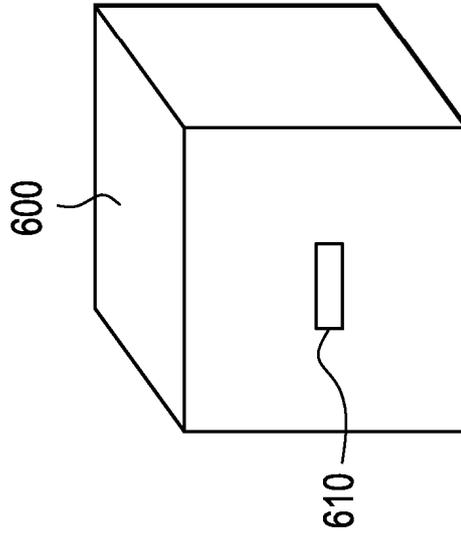


FIG. 9B

