

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 804 270**

51 Int. Cl.:

G01N 33/58 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.04.2014 PCT/EP2014/058473**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2014 WO14174085**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2014 E 14719337 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 2989467**

54 Título: **Tira para monitorizar concentraciones de analito**

30 Prioridad:

25.04.2013 EP 13165411

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

05.02.2021

73 Titular/es:

BIOSTRIP APS (100.0%)

Lindevangsvej 10

8420 Risskov, DK

72 Inventor/es:

FLEISCHER, JESPER;

HASENKAM, MICHAEL;

MAGNUSSON, NIELS E. y

NYGAARD, HANS

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 804 270 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

Tira para monitorizar concentraciones de analito

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un dispositivo para medir la concentración de analitos en una muestra líquida midiendo los cambios inducidos en las propiedades eléctricas en una zona de detección. Dicho dispositivo es particularmente útil para determinar la concentración de marcadores biológicos en muestras corporales, tales como
 10 muestras de sangre, orina o líquido intersticial, muestras de plantas o muestras ambientales, donde los dichos marcadores biológicos son característicos de una infección, enfermedad o afección médica, o la gravedad de las mismas. El dispositivo no requiere ningún entorno de laboratorio y, como tal, es particularmente útil para la monitorización en el punto de atención o la monitorización domiciliaria.

15 Antecedentes de la invención

A medida que aumenta la esperanza de vida, las enfermedades crónicas son ahora la principal causa de muerte y discapacidad en todo el mundo, incluidas las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la diabetes, la obesidad y las enfermedades respiratorias crónicas, y representan aproximadamente el 86 % de las muertes y el 77 % de la carga
 20 de morbilidad en la región europea, medida por años de vida ajustados por discapacidad. Este desarrollo ha provocado un cambio fundamental en los sistemas de salud y la atención médica y, por lo tanto, en los roles de los pacientes. El enfoque en las prácticas de autocuidado del paciente ha crecido sustancialmente, y muchos cuidados y tratamientos se llevan a cabo en el hogar, dejando a los pacientes y sus familiares con una mayor responsabilidad por su propia salud. La Organización Mundial de la Salud apoya el empoderamiento del paciente, pero requiere que los pacientes
 25 estén capacitados para monitorizar su propia salud. El empoderamiento del paciente tiene el potencial de ser muy beneficioso para la sociedad. Una consecuencia esperada es la reducción de los costos de atención médica. Los pacientes crónicos que automonitorizan su afección en el hogar pueden reducir su propio estrés y evitar visitas innecesarias a un consultorio médico cuando la enfermedad está bajo control, lo que permite a los profesionales dedicar más tiempo y recursos a pacientes con enfermedades agudas.

30 Existen varios dispositivos de monitorización que permiten a los pacientes crónicos monitorizar su afección en el hogar: los dispositivos para medir la presión sanguínea en pacientes con hipertensión, los monitores de glucemia para pacientes con diabetes tipo 2, los monitores de colesterol y los monitores de coagulación sanguínea son algunos ejemplos. Sin embargo, con la creciente demanda de empoderamiento del paciente, se necesitan más dispositivos
 35 para medir una variedad de factores adicionales involucrados en otras afecciones.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a un dispositivo que permite una medición cuantitativa de la concentración de analitos
 40 en una muestra biológica, estando conectado dicho dispositivo a un lector que proporciona una salida directa. El dispositivo comprende i) una zona de aplicación, a la que se puede aplicar una muestra, y que comprende un primer conjunto de moléculas que se unen específicamente a los analitos de interés, estando conjugadas dichas moléculas con un reportero tal como un metal coloidal; ii) una o más zonas de detección, que pueden estar en una tira que consiste en papel secante y una membrana; consistiendo dichas zonas de detección en áreas de la membrana en las
 45 que se inmoviliza un segundo conjunto de moléculas que se unen específicamente a los analitos de interés; estas moléculas pueden ser diferentes o idénticas al primer conjunto de moléculas específicas comprendidas en la zona de aplicación; iii) la aplicación y la una o varias zonas de detección se comunican de tal manera que los analitos pueden migrar desde la zona de aplicación a la una o varias zonas de detección. Tras la aplicación de la muestra a la zona de aplicación, los analitos se unen a las moléculas específicas conjugadas con un reportero. Cuando los complejos que
 50 consisten en los analitos y las moléculas conjugadas con el reportero migran a la zona de detección, las moléculas específicas inmovilizadas en la zona de detección se unen a los analitos, reteniendo así las moléculas conjugadas con el reportero en las zonas de detección respectivas. El aumento en la concentración de moléculas conjugadas con el reportero conduce e induce cambios detectables en las propiedades eléctricas de las zonas de detección. Los cambios inducidos en las propiedades eléctricas son, en una realización preferida de la invención, cambios en la impedancia
 55 y/o capacitancia. Por lo tanto, la medición de cambios en la impedancia y/o la capacitancia se puede utilizar para determinar la concentración de analito en la muestra. El uso de las mediciones de impedancia y/o capacitancia en un intervalo de frecuencias proporcionan un procedimiento más específico para medir la concentración de analito que procedimientos similares donde se mide la resistencia para determinar la concentración de analito (Lei 2011, Micro and Nano Letters, Vol. 6, Iss. 3, p. 157-160).

60

La presente invención es relevante para la monitorización de enfermedades en mamíferos, como humanos, ganado, mascotas, así como para la monitorización de enfermedades en plantas o animales como aves de corral, peces y aves, o para evaluar muestras ambientales. La presente invención proporciona un procedimiento de monitorización de enfermedades rápido y fácil de manejar. Se refiere a todas las enfermedades con al menos un marcador biológico específico que se puede encontrar en muestras corporales procedentes de animales (como humanos, mascotas y animales de granja, por ejemplo, ganado, aves de corral, caballos) y plantas. La invención es particularmente adecuada para el punto de atención o la monitorización domiciliaria.

Definiciones

10

Analito

Por analito se entiende cualquier componente, sustancia o componente químico o bioquímico que sea de interés. Dentro del alcance de la invención están las moléculas, incluidas las macromoléculas, comprendidas en muestras líquidas, incluidas muestras corporales, tales como antígenos, proteínas, enzimas, péptidos, polisacáridos, oligosacáridos, hormonas, incluidas las hormonas de crecimiento. De particular interés son los analitos que son marcadores biológicos de una enfermedad o afección médica.

15

Anticuerpo (monoclonal, policlonal)

20

Moléculas de inmunoglobulina y porciones activas de moléculas de inmunoglobulina. Los anticuerpos son, por ejemplo, moléculas de inmunoglobulina intactas o fragmentos de las mismas que conservan la actividad inmunológica. En esta invención, el término anticuerpo se utiliza en su sentido más amplio y abarca anticuerpos monoclonales (inclusive los anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpos, siempre que presenten la especificidad de unión deseada.

25

Anticuerpos anti-dsADN

Los anticuerpos anti-dsADN son un grupo de anticuerpos antinucleares y su antígeno diana es el ADN bicatenario. Los análisis de sangre, como el ensayo de inmunosorción ligada a enzimas (ELISA) y la inmunofluorescencia, se realizan de forma rutinaria para detectar anticuerpos anti-dsADN en laboratorios de diagnóstico. Son altamente diagnósticos del lupus eritematoso sistémico (LES). Los anticuerpos anti-dsADN son altamente específicos para el LES y, por lo tanto, se usan en el diagnóstico del LES. Los títulos más altos de anticuerpos anti-dsADN son más sugestivos de LES y los títulos más bajos se pueden encontrar en personas sin la enfermedad.

30

Anticuerpos antinucleares (ANA)

Los anticuerpos antinucleares (ANA), también conocidos como factor antinuclear o ANF, son autoanticuerpos que se unen al contenido del núcleo celular. En individuos normales, el sistema inmune produce anticuerpos contra proteínas extrañas (antígenos) pero no para proteínas humanas (autoantígenos). En algunos individuos, se producen anticuerpos contra antígenos humanos. Existen muchos subtipos de ANA, como los anticuerpos anti-Ro, los anticuerpos anti-La, los anticuerpos anti-Sm, los anticuerpos anti-nRNP, los anticuerpos anti-Scl-70, los anticuerpos anti-dsADN, los anticuerpos anti-histona, los anticuerpos contra los complejos de poros nucleares, los anticuerpos anti-centrómero y los anticuerpos anti-sp100. Cada uno de estos subtipos de anticuerpos se une a diferentes proteínas o complejos de proteínas dentro del núcleo. Se encuentran en muchos trastornos, incluida la autoinmunidad, el cáncer y las infecciones, con diferentes prevalencias de anticuerpos según la afección. Esto permite el uso de ANA en el diagnóstico de algunos trastornos autoinmunes, incluido el lupus eritematoso sistémico, el síndrome de Sjögren, la esclerodermia, la polimiositis, la dermatomiositis, la hepatitis autoinmune y el lupus inducido por fármacos.

35

Antígeno

El término antígeno designa el compuesto dirigido por un anticuerpo. Los antígenos son a menudo proteínas, polisacáridos o fragmentos de los mismos, y se pueden combinar con lípidos y fragmentos de ácido nucleico. El término antígeno se usa en esta invención en el sentido más amplio como cualquier sustancia que puede causar la producción de un anticuerpo en un organismo.

40

Zona de aplicación

El término zona de aplicación se refiere a la parte del dispositivo a la que se aplica una muestra. La zona de aplicación es tal que permite la aplicación de una muestra líquida, como, pero no se limita a, una muestra de sangre, orina o

45

50

líquido intersticial. En una realización preferida de la presente invención, la zona de aplicación está ubicada en una tira y comprende papel secante y una membrana. En otro aspecto, la zona de aplicación consiste en o comprende un rebaje. La zona de aplicación puede comprender una molécula que no está inmovilizada y que es capaz de unirse específicamente al analito de interés. La aplicación de la muestra a la zona de aplicación permite la unión de esta molécula específica al analito. La zona de aplicación puede contener varias moléculas específicas, cada una capaz de unirse a un analito diferente.

Marcadores biológicos

10 Por marcador biológico se entiende cualquier analito que sea característico de una afección biológica. De particular interés son los marcadores biológicos que caracterizan una enfermedad o afección médica como se definió anteriormente. Los marcadores biológicos pueden ser de varias naturalezas y tamaños. Cualquier marcador biológico que pueda unirse específicamente a al menos dos moléculas diferentes o a una molécula capaz de unirse al marcador biológico en al menos dos sitios diferentes está dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, una proteína que puede unirse a dos proteínas diferentes está dentro del alcance de la invención. Otro ejemplo es una proteína que puede unirse simultáneamente a otra proteína individual en dos sitios distintos. Otro ejemplo es una proteína que existe en una forma multimérica, como la forma dimérica, en la que un monómero se puede unir específicamente a una proteína, como un anticuerpo, y el otro monómero se puede unir específicamente a otra proteína, como un anticuerpo.

15 20 La proteína C reactiva (PCR), el factor tumoral p53 y el factor reumatoide (FR) son marcadores biológicos de particular interés para la presente invención.

Las realizaciones particulares de la invención incluyen, pero no se limitan a, las siguientes conjugados de marcador biológico/molécula de unión específica: proteína/proteína, enzima/sustrato, antígeno/anticuerpo, proteína/vitamina.

Muestras corporales

30 El término muestras corporales se usa en esta invención en el sentido más amplio del término como referencia a muestras tomadas de un organismo. Este organismo puede ser el cuerpo de un animal, por ejemplo, humanos, animales de granja, peces, o el organismo puede ser una planta.

Almohadilla conjugada

35 La almohadilla conjugada descrita en esta invención está hecha de un tipo de papel u otro material altamente absorbente, que es capaz de absorber líquidos tales como muestras corporales. La almohadilla a menudo consiste en o comprende algodón súper limpio, pero se prevé cualquier papel capaz de absorber líquidos. El papel secante para la inmovilización de anticuerpos comprende o consiste en membranas de nitrocelulosa o fluoruro de polivinilideno (PVDF) que tienen una alta afinidad de unión inespecífica por los aminoácidos.

Proteína C reactiva (PCR)

40 La proteína C reactiva (PCR) es una proteína de fase aguda sintetizada en el hígado y que se encuentra en la sangre. Sus niveles aumentan en respuesta a la inflamación. La PCR se une a la fosfocolina en las células dañadas, iniciando así la respuesta fagocítica activando el complemento. La respuesta de fase aguda se desarrolla en una amplia gama de afecciones inflamatorias agudas y crónicas como infecciones bacterianas, virales o fúngicas; enfermedades reumáticas y otras enfermedades inflamatorias; malignidad; y lesión tisular o necrosis. Estas afecciones provocan la liberación de interleucina-6 y otras citocinas que desencadenan la síntesis de PCR y fibrinógeno por el hígado. Durante la respuesta de fase aguda, los niveles de PCR aumentan rápidamente dentro de las 2 horas posteriores al insulto agudo, que alcanzan un máximo a las 48 horas. Debido a que hay una gran cantidad de afecciones disparejas que pueden aumentar la producción de PCR, un nivel elevado de PCR no diagnostica una enfermedad específica. Un nivel elevado de PCR puede respaldar la presencia de una enfermedad inflamatoria, como la artritis reumatoide, la polimialgia reumática o la arteritis de células gigantes. Los niveles de PCR también son indicativos de la presencia de infecciones.

Capilaridad

55 La atracción capilar, o capilaridad, es la capacidad de un líquido para fluir en espacios estrechos sin la ayuda y en oposición a fuerzas externas como la gravedad. Como resultado de la capilaridad, los líquidos pueden extraerse en materiales porosos como el papel, en algunos materiales no porosos como la fibra de carbono licuada o en una celda.

En la presente invención, las fuerzas capilares dan como resultado la absorción de la muestra líquida en la zona de aplicación, así como la migración de los analitos contenidos en la muestra desde la zona de aplicación a la al menos una zona de detección.

5 **Metal coloidal**

El metal coloidal es una suspensión (o coloide) de partículas de metal de tamaño submicrométrico en un fluido, como, pero no se limita a, agua.

- 10 Se puede usar cualquier metal coloidal en la presente invención. El metal coloidal incluye cualquier partícula metálica insoluble en agua o compuesto metálico disperso en agua líquida, un hidrosol o un sol metálico. Los metales preferidos incluyen oro, plata y platino.

15 **Conjugación**

- 15 La conjugación es el procedimiento mediante el cual las partículas metálicas coloidales se unen (conjugan) a una molécula como una proteína. Una realización de la presente invención se refiere a una proteína, en particular un anticuerpo, conjugado con partículas de metal coloidal, donde el metal coloidal es un metal noble, en particular oro, plata y platino. La conjugación se puede realizar por adsorción de las partículas metálicas a la proteína o anticuerpo, 20 o por unión covalente de las partículas metálicas a los grupos tiol presentados por la proteína o el anticuerpo.

Zona de detección

- El término zona de detección se refiere a la parte del dispositivo en la que se determina la concentración de un analito 25 midiendo los cambios inducidos en las propiedades eléctricas de dicha zona de detección. En una realización preferida de la presente invención, la zona de detección está ubicada en una tira que consiste en o que comprende papel secante y una membrana. La zona de detección comprende moléculas que están inmovilizadas y que son capaces de unirse específicamente al analito de interés. La migración de los analitos contenidos en la muestra y aplicados a la zona de aplicación a través de la zona de detección permite la unión de esta molécula específica al analito. El analito 30 específicamente unido a la molécula inmovilizada conjugada con el reportero queda así retenido en la zona de detección. La zona de detección puede subdividirse en varias zonas de detección, conteniendo cada una una molécula inmovilizada específica que puede ser diferente o idéntica a las moléculas inmovilizadas en cualquier otra zona de detección. En una realización, al menos una de las zonas de detección contiene albúmina de suero bovino inmovilizado (ASB). En otra realización, al menos una de las zonas de detección contiene un control positivo. La zona de detección 35 es tal que la impedancia y/o la capacitancia se puede medir con electrodos. Los cambios inducidos en las propiedades eléctricas medidas en la zona de detección varían en función de la cantidad de partículas metálicas retenidas en dicha zona de detección.

Enfermedad o afección médica

- 40 Los términos enfermedad o afección médica deben interpretarse como que se refieren a cualquier trastorno patológico en un cuerpo (organismo animal o vegetal). De particular interés para la presente invención son las infecciones, incluidas las infecciones bacterianas, virales y fúngicas, las enfermedades crónicas y las afecciones médicas que pueden durar mucho tiempo, como la inflamación, tal como, pero no se limita a, la inflamación en pacientes sometidos 45 a cirugía ortopédica, como la implantación de un miembro artificial, como una cadera, la inflamación en pacientes sometidos a cirugía de implantación, como la implantación de una válvula cardíaca artificial, la inflamación en pacientes que padecen artritis, cáncer, enfermedades autoinmunes. Los marcadores biológicos (analitos) de tales enfermedades pueden monitorizarse mediante un equipo operado por el paciente tal como el dispositivo o sistema de la presente invención y, por lo tanto, pueden ser parte del tratamiento telemédico. Particularmente, son de interés las afecciones 50 que requieren monitorización regular o repetida en la práctica de un médico forense o en un punto de atención. Cualquier enfermedad o afección médica para la cual se conoce un marcador biológico es relevante.

Impedancia eléctrica

- 55 La impedancia eléctrica es la medida de la resistencia que presenta un circuito al paso de una corriente cuando se aplica un voltaje. En términos cuantitativos, es la relación compleja del voltaje a la corriente en un circuito de corriente alterna (CA). La impedancia extiende el concepto de resistencia a los circuitos de CA y posee magnitud y fase, a diferencia de la resistencia, que solo tiene magnitud. En los circuitos de corriente continua (CC), no hay distinción 60 entre impedancia y resistencia; esta última puede considerarse como una impedancia con ángulo de fase cero. Es necesario introducir el concepto de impedancia en los circuitos de CA porque existen otros mecanismos que impiden

el flujo de corriente además de la resistencia normal de los circuitos de CC. Hay dos mecanismos de impedimento adicionales que deben tenerse en cuenta en los circuitos de CA: la inducción de voltajes en conductores autoinducidos por los campos magnéticos de corrientes (inductancia) y el almacenamiento electrostático de la carga inducida por voltajes entre conductores (capacitancia). La impedancia causada por estos dos efectos se denomina colectivamente
 5 reactancia y forma la parte imaginaria de la impedancia compleja, mientras que la resistencia forma la parte real. La medición de la impedancia requiere la medición de la magnitud del voltaje y la corriente, y la diferencia de fase entre ellos. El símbolo de la impedancia es Z y la impedancia se expresa en ohmios (Ω).

Electrodos

10

Un electrodo es un conductor eléctrico utilizado para hacer contacto con una parte no metálica de un circuito. Los electrodos se usan en esta invención para hacer contacto entre la unidad lectora y las zonas de detección. El término electrodo se refiere a electrodos de contacto y sin contacto. Los electrodos capacitivos no requieren una conexión óhmica al electrolito (zona de detección) y, por lo tanto, los electrodos capacitivos también se denominan electrodos
 15 sin contacto. El electrodo capacitivo es un conductor recubierto con una capa aislante eléctrica. No hay conducción entre el electrodo y el electrolito (zona de detección). Por lo tanto, los electrodos capacitivos no están en contacto directo con las moléculas en la zona de detección. Los electrodos de impedancia tienen una conexión óhmica, es decir, un contacto directo con el electrolito (zona de detección).

20 En una realización, la adaptación de la impedancia de los electrodos se logra recubriendo los electrodos con una sal tal como cloruro de plata. Las realizaciones de la presente invención se refieren a dispositivos en los que la impedancia de las zonas de detección se mide con al menos dos electrodos. En una realización, se usan dos electrodos para medir la impedancia en al menos dos zonas de detección; los electrodos se mueven en relación con el dispositivo para que puedan contactarse secuencialmente con cada zona de detección. En otra realización, se usan dos electrodos
 25 para medir la impedancia en cada zona de detección; en esta realización, el número de electrodos es el doble del número de zonas de detección, y las impedancias de cada zona de detección pueden medirse simultáneamente. En una realización preferida de la invención, la impedancia de cada zona de detección se mide con tres electrodos. En otra realización preferida de la invención, la impedancia de cada zona de detección se mide con cuatro electrodos.

Muestra líquida

El término muestra líquida debe entenderse como cualquier muestra en forma líquida que contiene analitos. Las realizaciones preferidas de la invención son aquellas en las que la muestra líquida es una muestra corporal, tal como una muestra de orina, una muestra de sangre, una muestra de fluido intersticial o una muestra de planta.
 35 Preferentemente, la muestra se origina en un ser humano. El volumen de la muestra es tal que es posible la migración de los analitos contenidos en la muestra desde la zona de aplicación a la zona de detección; en particular los analitos serán capaces de migrar al menos hasta más allá de la última zona de detección. En una realización, el volumen de la muestra es inferior a 50 microlitros (μl), en una realización preferida de la invención, el volumen de la muestra está en el intervalo de 5 μl a 10 μl .

40

Membrana

Una membrana en el contexto de la presente invención es un vehículo tal como una nitrocelulosa, un fluoruro de polivinilideno (PVDF) o una membrana de nylon, o cualquier membrana conocida en la técnica, en la que se pueden
 45 inmovilizar moléculas tales como anticuerpos.

Metal

El término "metal", como se usa en esta invención, es un elemento, compuesto o aleación que es un buen conductor de la electricidad y el calor, que pierde fácilmente electrones para formar iones positivos (cationes), y que pertenece al grupo "metal" como se conoce en el estado de la técnica y como se define por su posición en la tabla periódica. De particular relevancia para la presente invención son las partículas metálicas que pueden conjugarse con anticuerpos.

50

Metal noble

55

Los metales nobles son metales resistentes a la corrosión y la oxidación en el aire húmedo, a diferencia de la mayoría de los metales básicos, incluso a altas temperaturas. La agrupación no está estrictamente definida, pero generalmente se considera que incluye renio, rutenio, rodio, paladio, plata, osmio, iridio, platino y oro; es decir, los metales de los grupos VIIb, VIII y Ib de la segunda y tercera serie de transición de la tabla periódica.

60

Cromatografía en papel

La cromatografía en papel es una técnica de separación. En el presente contexto, la cromatografía en papel es el procedimiento por el cual los analitos contenidos en la muestra aplicada a la zona de aplicación migran a la al menos una zona de detección.

Unidad lectora

Una unidad lectora es cualquier dispositivo capaz de evaluar el espectro de impedancia medido en la al menos una zona de detección por los al menos dos electrodos. Preferentemente, la unidad lectora comprende una unidad de visualización, que muestra el espectro de impedancia de la zona de detección. Más preferentemente, la unidad lectora está calibrada de tal manera que puede mostrar la concentración del analito de interés, convertida a partir del espectro de impedancia medida en la zona de detección. La unidad lectora puede conectarse a una fuente de alimentación, una unidad de impresora y está conectada a los al menos dos electrodos. En una realización preferida de la invención, la unidad lectora funciona con baterías y es portátil. La unidad lectora puede comprender una unidad de almacenamiento de datos y/o una unidad de transmisión de datos.

Factor reumatoide (FR)

El factor reumatoide (FR) es el autoanticuerpo (anticuerpo dirigido contra los propios tejidos de un organismo) que es más relevante en la artritis reumatoide (AR). La AR es una enfermedad autoinmune y una forma de artritis inflamatoria. La AR es una enfermedad crónica. La evidencia muestra que el diagnóstico temprano, el tratamiento temprano y el tratamiento agresivo para poner la enfermedad en remisión son los mejores medios para evitar la destrucción de las articulaciones, el daño a los órganos y la discapacidad. Las causas de la AR siguen siendo desconocidas, pero es probable que sean una combinación de factores genéticos y ambientales.

El FR es un anticuerpo contra la porción Fc de IgG. Se utiliza como marcador biológico de la AR y el síndrome de Sjögren. La presencia de FR en el suero no es prueba en sí misma de que el sujeto sometido a prueba sufre de AR o síndrome de Sjögren. En cambio, su presencia debe interpretarse junto con otros síntomas para poder hacer un diagnóstico claro. Los niveles elevados de FR también pueden asociarse con otras actividades autoinmunes, como el rechazo de tejidos u órganos. Los niveles de FR también son un buen indicador de la intensidad de las enfermedades y pueden ayudar a determinar si se requiere tratamiento.

Sensores

Los sensores que se usan en esta invención son capaces de medir los cambios de impedancia en una sola frecuencia, los cambios de impedancia en un intervalo de frecuencias (espectro de impedancia), los cambios en la capacitancia y/o la frecuencia resonante en la zona de detección. Los cambios medibles en la zona de detección pueden ser activos (inducidos) o pasivos. Los cambios medibles pueden inducirse aplicando una señal de estímulo de frecuencia a través de la zona de detección. Los cambios de impedancia y/o capacitancia se capturan a continuación en función de los cambios inducidos en la zona de detección. Cuando los cambios medibles son pasivos, un campo magnético de un objeto inminente o estacionario puede, en una realización, afectar la frecuencia resonante de los electrodos de detección. En otra realización, la permeabilidad de un material puede afectar la impedancia de los electrodos de detección. Las mediciones realizadas por el sensor se pueden usar para deducir un espectro de impedancia.

Tira

El término "tira", como se usa en esta invención, comprende un papel secante y una membrana adecuada para inmovilizar moléculas, tales como anticuerpos. Se prefiere que la tira comprenda al menos una zona de aplicación y al menos una zona de detección. En una realización preferida de la invención, la tira comprende al menos una zona de aplicación, al menos una zona de migración y al menos una zona de detección. Dentro del alcance de la invención hay realizaciones en las que el papel secante es cualquier papel conocido en la técnica como adecuado para procedimientos de transferencia seca, y en las que la membrana se selecciona de entre el grupo que consiste en fluoruro de polivinilideno (PVDF), nitrocelulosa y membranas de nylon. También se prevén otras membranas adecuadas para inmovilizar moléculas tales como las moléculas B específicas. En una realización preferida de la invención, el dispositivo como se describe en esta invención es una tira.

Lupus eritematoso sistémico (LES)

El lupus eritematoso sistémico (LES o lupus) es una enfermedad autoinmune sistémica que puede afectar cualquier

parte del cuerpo. El LES suele dañar el corazón, las articulaciones, la piel, los pulmones, el sistema de coagulación de la sangre, los vasos sanguíneos, el hígado, los riñones y el sistema nervioso. El curso de la enfermedad es impredecible, con períodos de enfermedad (llamados brotes) que se alternan con remisiones. No hay cura para el LES, que puede ser fatal. Los tratamientos actuales incluyen esteroides, que son conocidos por tener efectos secundarios fuertes e indeseables y, por lo tanto, deben administrarse lo menos posible.

La prueba de anticuerpos antinucleares (ANA) y el antígeno nuclear anti-extraíble (anti-ENA) forman el pilar de las pruebas serológicas para LES. En particular, el anti-dsADN es un sello distintivo conocido de LES.

10 **Factor tumoral p53**

La p53 (también conocida como proteína 53 o proteína tumoral 53), es una proteína supresora de tumores que en los humanos está codificada por el gen *TP53*. La p53 es crucial en organismos multicelulares, donde regula el ciclo celular y, por lo tanto, funciona como un supresor tumoral involucrado en la prevención del cáncer. Como tal, la p53 se ha descrito como "el guardián del genoma" debido a su papel en la conservación de la estabilidad al impedir la mutación genómica. El supresor tumoral p53 es un factor de transcripción específico de secuencia y actúa como un centro central que detecta varias señales de estrés y activa una serie de genes diana para inducir la detención del ciclo celular, la apoptosis y la senescencia. En respuesta a varias señales de estrés, como daño en el ADN, hipoxia u oncogenes activados, la proteína p53 se activa de manera específica mediante modificaciones postraduccionales y conduce a la reparación del ADN, la detención del ciclo celular, la apoptosis o la senescencia celular. La alteración del gen p53 es la alteración genética más frecuente en el cáncer humano, y conduce a la acumulación de p53 mutante en el núcleo de las células tumorales. Los anticuerpos anti-p53 se pueden encontrar en el suero de pacientes con varios tipos de cáncer. Además, existe una buena correlación entre la presencia de anticuerpos anti-p53 y la presencia de una mutación en el gen p53. La presencia de anticuerpos contra p53 se asocia con un mal resultado de la enfermedad. Los anticuerpos contra p53 se encontraron con mayor frecuencia en etapas tumorales avanzadas. Por lo tanto, monitorizar la concentración de anticuerpos p53 es relevante para monitorizar el progreso de varios tipos de cáncer y para evaluar la respuesta al tratamiento y/o terapia como la quimioterapia.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un dispositivo para medir la concentración de analitos en una muestra líquida midiendo las variaciones en la impedancia y/o la capacitancia en una zona de detección. El dicho dispositivo es particularmente útil para determinar la concentración de marcadores biológicos en muestras corporales, como muestras de sangre, orina o líquido intersticial, donde los dichos marcadores biológicos son característicos de una infección bacteriana, viral o fúngica o de una enfermedad o afección crónica, o la gravedad de las mismas. El dispositivo no requiere ningún entorno de laboratorio y, como tal, es particularmente útil para la monitorización en el punto de atención o domiciliaria.

El dispositivo se divide en al menos dos zonas: al menos una zona de aplicación y al menos una zona de detección. En una realización preferida de la invención, una tira hecha de papel secante y una membrana adecuada para inmovilizar moléculas, tales como anticuerpos, comprenden la al menos una zona de aplicación y la al menos una zona de detección. En una realización preferida de la invención, la al menos una zona de aplicación es una zona de aplicación. La zona de aplicación contiene moléculas libres A que son capaces de unirse específicamente al analito C de interés, estando conjugadas dichas moléculas A con un reportero D, que es tal que las variaciones en la cantidad de moléculas reporteras provocan cambios inducidos en las propiedades eléctricas. Cada una de las al menos una zonas de detección es tal que una molécula B, que es capaz de unirse específicamente al analito C, se inmoviliza en su superficie. En una realización preferida de la invención, el dispositivo comprende unas estrías definidas en esta invención. La molécula B se inmoviliza en la superficie de la membrana. Los procedimientos de inmovilización para unir las moléculas B específicas a la membrana son procedimientos conocidos por el usuario experto e incluyen procedimientos de unión por afinidad y unión covalente.

Las moléculas específicas A y B dentro del alcance de la presente invención son tales que la molécula específica A y la molécula específica B son diferentes entre sí o idénticas entre sí, siempre que puedan unirse específicamente al mismo analito C simultáneamente. Las moléculas A y B pueden ser anticuerpos, incluidos anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos biespecíficos. En una realización, la molécula A es un anticuerpo monoclonal y la molécula B es un anticuerpo policlonal. En otra realización, la molécula A es un anticuerpo policlonal y la molécula B es un anticuerpo monoclonal. En otra realización más, la molécula A y la molécula B son anticuerpos monoclonales diferentes. En otra realización más, la molécula A y la molécula B son anticuerpos policlonales diferentes. O bien, la molécula A y la molécula B son el mismo anticuerpo biespecífico.

60

Dentro del alcance de la presente invención hay realizaciones en las que el analito C específicamente unido a A y B es un marcador biológico, preferentemente un marcador biológico para una infección bacteriana, viral o fúngica, para una enfermedad o una afección médica o para la gravedad de las mismas, incluso más preferentemente una enfermedad o afección crónica. El analito C puede ser cualquier componente, sustancia o componente bioquímico.

5 Esto incluye macromoléculas compuestas en muestras líquidas, incluidas muestras corporales como muestras de sangre, muestras de orina o muestras de líquido intersticial. En una realización, las muestras corporales se originan a partir de organismos de mamíferos, tales como humanos, ganado o mascotas. En otras realizaciones, las muestras se originan a partir de peces o animales de granja como aves de corral. En otra realización más, las muestras se originan a partir de una planta. Dichas macromoléculas pueden ser, pero no se limitan a, antígenos, proteínas, péptidos,
10 polisacáridos, oligosacáridos, hormonas, hormonas de crecimiento. De particular interés para la presente invención son los analitos que pueden unirse específicamente a al menos una molécula tal como las moléculas específicas A o B como se describió anteriormente. En algunas realizaciones, el analito C es un marcador biológico para la inflamación, para infecciones, para el cáncer o para la artritis reumatoide; estos marcadores incluyen PCR, p53, anticuerpos anti-
15 dsADN y factor reumatoide.

Tras la aplicación de la muestra a la zona de aplicación, el analito C se une a la molécula específica A conjugada con el reportero D (denominado en lo sucesivo complejo AD). Los analitos contenidos en la muestra, incluido el analito C, migran a través de fuerzas capilares desde la zona de aplicación a la al menos una zona de detección. Cada zona de detección lleva moléculas B inmovilizadas, que son capaces de unirse al analito C específicamente
20 independientemente de si el analito C ya está unido a la molécula específica A. Cuando el analito C, unido a AD, migra a través de la zona de detección en la superficie en la que la molécula B específica está inmovilizada, el analito C se retiene en la zona de detección tras la unión específica a la molécula B inmovilizada. Los analitos que no están unidos específicamente a la molécula B migran más allá de la zona de detección. En una realización preferida de la invención, la molécula B está unida directamente a la tira. Se prefiere que B no esté unido al electrodo.

25 La zona de detección ahora presenta en su superficie complejos ADC que consisten en: molécula específica A conjugada con el reportero D y unida al analito C, que también está unido a una molécula específica B inmovilizada en la zona de detección. El reportero D es un reportero que puede producir un cambio en las propiedades eléctricas como la impedancia y/o la capacitancia. La impedancia y/o la capacitancia de la zona de detección depende, por lo tanto, de la cantidad de reportero D.
30

En una realización, el reportero D es un metal coloidal, preferentemente un metal noble tal como, pero no se limita a, oro, plata, iridio, platino, osmio, rodio, paladio y coloides de rutenio. Las realizaciones preferidas de la invención son oro, plata y platino. Las partículas metálicas se pueden conjugar con las moléculas A específicas mediante
35 procedimientos conocidos en la técnica, como la adsorción o la unión covalente, por ejemplo, la unión covalente a los grupos tiol presentes en la molécula específica A.

El dispositivo puede adaptarse para que comprenda varias zonas de detección, cada una adecuada para la detección de un analito específico. Esto puede ser útil para aumentar la sensibilidad, si varios marcadores biológicos son
40 característicos de una afección patológica cuando están presentes en combinación. Tal dispositivo también permite el diagnóstico de varias afecciones simultáneamente. En una realización, la zona de detección consiste en al menos dos zonas de detección, como al menos tres zonas de detección, como al menos cuatro zonas de detección, como al menos cinco zonas de detección. Así, en una realización, la zona de detección consiste en cinco zonas de detección.

45 En una realización, una de las zonas de detección es un control negativo en el que se inmoviliza una molécula E, que no se une a ninguno de los analitos C de interés. En una realización, la molécula E es albúmina de suero bovino (ASB). Las variaciones en la impedancia y/o la capacitancia medida en la zona de control negativo es el resultado de la unión inespecífica de analitos a la molécula E y se utilizan como referencia. En tal realización, la impedancia ΔZ de la al menos una zona de detección se determina como la diferencia entre la impedancia Z_d de la al menos una zona de
50 detección y la impedancia Z_n de la al menos una zona de control, de modo que la impedancia Z viene dada por la fórmula: $\Delta Z = Z_d - Z_c$; Z_c es el control o la impedancia debida al ruido de fondo. Alternativamente, la variación en la impedancia ΔZ de la al menos una zona de detección se determina como la relación entre la impedancia Z_d de la al menos una zona de detección y la impedancia Z_c de la al menos una zona de control, de modo que la impedancia Z viene dada por la fórmula: $\Delta Z = Z_d / Z_c$. En una realización, la concentración de el al menos un analito C se determina
55 para cada una de las al menos una de las zonas de detección en función de la impedancia ΔZ .

En otra realización, la capacitancia de la al menos una zona de detección se determina como la diferencia o la relación entre la capacitancia C_d de la al menos una zona de detección y la capacitancia C_c de la al menos una zona de control negativo, de modo que la capacitancia C viene dada por la fórmula: $\Delta C = C_d - C_c$ o $\Delta C = C_d / C_c$. En una realización, la
60 concentración de el al menos un analito C se determina para cada una de las al menos una de las zonas de detección

en función de la capacitancia ΔC .

- En otra realización, una de las zonas de detección es un control positivo en el que una molécula F ha sido inmovilizada. Esta zona de control positivo se encuentra preferentemente en el extremo de la tira que se encuentra más lejos de la zona de aplicación, y puede contener un ensayo visual que indica que la migración se realizó correctamente. Por lo tanto, es posible determinar que se aplicó suficiente volumen de muestra a la zona de aplicación, o que ninguna impureza impidió la migración adecuada de los analitos a través de todo el dispositivo. La molécula F puede ser cualquier molécula capaz de unirse a un compuesto que se sabe que está presente en la zona de aplicación o en la muestra líquida. En una realización preferida de la invención, la molécula F es un anticuerpo contra una de las moléculas específicas A conjugadas con el reportero D. En otra realización, la molécula F es un anticuerpo contra uno de los analitos que se sabe que siempre están presentes en la muestra corporal, por ejemplo, si la muestra se origina en un ser humano, la molécula F es un anticuerpo dirigido contra regiones constantes de anticuerpos humanos. Por lo tanto, siempre que F sea capaz de unirse a AD específicamente a través de una unión específica a A, el único requisito para la acumulación de reportero D en la zona de control positivo es que el complejo AD migró desde la zona de aplicación a la zona de detección. En una realización, la migración adecuada se puede verificar mediante un ensayo visual. Por ejemplo, el reportero D puede ser oro coloidal, que puede precipitar y dar lugar a una señal visible en la zona de control positivo, como es bien sabido en la técnica. En otra realización, la impedancia y/o la capacitancia de la zona de control positivo se mide para verificar la migración adecuada.
- En otra realización más, el dispositivo contiene una zona de control positivo, una zona de control negativo y al menos una zona de detección, como al menos dos zonas de detección, como al menos tres zonas de detección, como al menos cuatro zonas de detección, como al menos cinco zonas de detección. En una realización particular, el dispositivo comprende una zona de control positivo, una zona de control negativo y cinco zonas de detección.
- En otra realización, el dispositivo se puede alojar en una carcasa para impedir que agentes externos como partículas de polvo se junten en la tira e interfieran con el análisis. La carcasa puede consistir en una carcasa de plástico, o cualquier carcasa conocida en la técnica.

En una realización, el dispositivo se usa para monitorizar analitos que son marcadores biológicos para infecciones, enfermedades o trastornos, o la gravedad de los mismos. Las enfermedades o trastornos que pueden monitorizarse son: la inflamación y ciertas formas de trastornos autoinmunes, incluida la inflamación después de una cirugía ortopédica, inflamación debida al rechazo de un implante artificial como una cadera o una válvula cardíaca; ciertos tipos de cáncer, más particularmente cánceres en los que se producen anticuerpos anti-p53 en el cuerpo; la artritis reumatoide; la polimialgia reumática; el lupus eritematoso disseminado; la respuesta inflamatoria o la infección bacteriana, viral o fúngica después del trasplante o implantación. En una realización, el dispositivo se usa para medir la concentración de al menos dos analitos, como al menos tres analitos, como al menos cuatro analitos, como al menos cinco analitos.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un procedimiento para medir la concentración de al menos un analito C en una muestra líquida. En una realización, el procedimiento comprende aplicar una muestra líquida a la zona de aplicación del dispositivo, comprendiendo la zona de aplicación al menos una molécula A capaz de unirse específicamente al analito C y que está acoplada a un reportero D. En otra realización, la muestra líquida se agrega a un depósito que comprende un tampón. La muestra que comprende el tampón se aplica a continuación a la zona de aplicación, por ejemplo, sumergiendo o sumergiendo la parte de la tira que comprende la zona de aplicación en el tampón en el depósito. En una realización, A está en el tampón. El tampón puede ser, por ejemplo, un tampón isotónico y/o comprender detergentes como Tween20.

El complejo que consiste en la molécula A y el reportero D no está inmovilizado en la superficie de la zona de aplicación. Tras la aplicación de la muestra, el analito C se une a la molécula A, lo que da como resultado un complejo ADC que consiste en C, A y D. Los analitos migran desde la zona de aplicación a la zona de detección, comprendiendo dicha zona de detección al menos una molécula B capaz de unirse específicamente a dicho analito C, en el que la molécula B está inmovilizada en la superficie de la zona de detección y la molécula A y la molécula B pueden unirse al analito C simultáneamente. Tras la migración de los analitos a través de la zona de detección, la molécula B retendrá los complejos ADC al unirse al analito C. Se mide la impedancia y/o la capacitancia en al menos una zona de detección, y se compara opcionalmente con la impedancia y/o la capacitancia de otra zona de detección en la que no está unido ningún reportero D.

La migración de los analitos desde la zona de aplicación a la al menos una zona de detección es el resultado de fuerzas capilares o cromatografía en papel.

60

También dentro del alcance de la presente invención ehay un mprocedimiento en el que la zona de aplicación contiene un conjunto de moléculas A_k que se unen específicamente a un analito C_m , y en el que cada una de la al menos una zona de detección i contiene una molécula inmovilizada B_i diferente de cualquier molécula B_j presente en cualquier otra zona de detección j , donde i, j, k y m son números enteros. Así, en una realización, $1 < i < 5, 1 < j < 5, 1 < k < 5$ y $1 < m < 5$.

5 En otra realización, la zona de aplicación contiene 5 moléculas A (acopladas a un reportero D): A_1, A_2, A_3, A_4 y A_5 , uniéndose cada una a un analito C_1, C_2, C_3, C_4 o C_5 ; el dispositivo comprende 5 zonas de detección, cada una con una molécula B_1, B_2, B_3, B_4 o B_5 inmovilizada en la superficie, donde cada una de las moléculas B_1, B_2, B_3, B_4 o B_5 es diferente de la molécula B presente en cualquier otra zona de detección. Tras la migración, A_1 está unido a B_1, A_2 está unido a B_2, A_3 está unido a B_3, A_4 está unido a B_4 y A_5 está unido a B_5 . Los reporteros D con los que se pueden
10 conjugar las moléculas A_k pueden ser idénticos o diferentes.

Es un objetivo de la presente invención monitorizar la concentración de analitos contenidos en muestras líquidas, en particular muestras corporales, que incluyen, pero no se limitan a muestras de sangre, muestras de orina y muestras de fluidos intersticiales. Las realizaciones dentro del alcance de la presente invención se refieren a la monitorización
15 de la concentración de más de un analito, como al menos dos analitos, como al menos tres analitos, como al menos cuatro analitos, como al menos cinco analitos. Una realización preferida de la invención permite la medición de la concentración de dos analitos. En otra realización preferida más de la invención, uno de los analitos a monitorizar siempre se encuentra en la muestra líquida, de modo que medir la impedancia y/o la capacitancia en la zona de detección en la que se retiene este analito permite un control positivo que garantiza que la migración de los analitos
20 se haya producido correctamente. En una realización, la variación de la impedancia y/o la capacitancia en la zona de control positivo permite una evaluación visual, por ejemplo, mediante una reacción colorimétrica como la conocida en la técnica. Una de las zonas de detección puede ser una zona de control negativo, en la que se inmoviliza una molécula que no se une específicamente a ninguno de los analitos de interés. Medir la impedancia y/o la capacitancia de esta zona de control negativo produce una medida de la impedancia de ruido de fondo, que se restará de la impedancia
25 y/o la capacitancia medida en las otras zonas de detección.

La impedancia y/o la capacitancia de las zonas de detección se mide utilizando un conjunto de al menos dos electrodos conectados a una fuente de alimentación. En una realización, los electrodos se ajustan a la impedancia del reportero D. En otra realización, los electrodos se ajustan a la impedancia de la al menos una zona de detección. Las
30 realizaciones en las que el cambio en la impedancia y/o la capacitancia se mide mediante al menos dos electrodos, como al menos tres electrodos, como al menos cuatro electrodos, como al menos cinco electrodos, como al menos seis electrodos, también están dentro del alcance de la invención. En una realización, la impedancia y/o la capacitancia se mide con dos electrodos. En una realización preferida de la invención, los al menos dos electrodos son electrodos de impedancia o electrodos capacitivos. Los cambios de impedancia y/o los cambios en la capacitancia también se
35 pueden monitorizar utilizando dos electrodos de impedancia y electrodos capacitivos.

Los electrodos utilizados en el contexto de la presente invención se fabrican a partir de un metal, preferentemente seleccionado de entre el grupo de metales nobles. Las realizaciones preferidas de la invención incluyen electrodos fabricados a partir de un metal noble seleccionado de entre el grupo de oro, plata, platino, iridio, osmio, rodio y rutenio,
40 o aleaciones de los mismos. Las realizaciones preferidas de la invención son oro, plata y platino. Los electrodos, se conectan a una fuente de alimentación, y la al menos una zona de detección y se pueden poner en movimiento uno con respecto al otro. En una realización preferida de la invención, el electrodo es un electrodo de impedancia o un electrodo capacitivo. En otra realización preferida de la invención, ambos electrodos están comprendidos en el dispositivo. El uso de electrodos de impedancia o capacitivos da como resultado mediciones más específicas de la
45 concentración de analito.

Una realización preferida de la presente invención se refiere a un dispositivo que contiene al menos dos zonas de detección. Cuando se usan dos electrodos, las impedancias y/o las capacitancias de las al menos dos zonas de detección pueden medirse secuencialmente. En las realizaciones en las que se usan más de dos electrodos, las
50 impedancias y/o las capacitancias de las al menos dos zonas de detección se pueden medir simultáneamente o secuencialmente; en una realización preferida de la invención, las impedancias y/o las capacitancias de las al menos dos zonas de detección se miden simultáneamente.

La presente invención también se refiere a un sistema para medir la concentración de al menos un analito en una muestra líquida, comprendiendo dicho sistema el dispositivo de la presente invención, una unidad lectora en la que se puede insertar el dispositivo, al menos dos electrodos capaces de medir la impedancia y/o la capacitancia de la al menos una zona de detección, una fuente de alimentación y una salida de datos. En una realización, los electrodos están comprendidos en la unidad lectora. Los al menos dos electrodos son, en una realización preferida de la invención, electrodos de impedancia o electrodos capacitivos. El sistema o unidad lectora puede comprender, por ejemplo, al
60 menos dos electrodos de impedancia y al menos dos electrodos capacitivos. El sistema mostrado en la figura 6

comprende dos zonas de detección, 4 electrodos capacitivos y ocho electrodos de impedancia. En una realización, el sistema comprende además un sensor capaz de medir los cambios de impedancia en una sola frecuencia, los cambios de impedancia en un intervalo de frecuencias, los cambios en la capacitancia y/o la frecuencia resonante en la zona de detección. El sensor se define en otra parte de esta invención. El sensor está, en una realización, comprendido en el lector.

En una realización esencial, al menos la parte del dispositivo que contiene la al menos una zona de detección puede insertarse en el lector. Una unidad lectora que comprende un sensor de temperatura también está dentro del alcance de la presente invención. En una realización, la unidad lectora está conectada a una fuente de alimentación, como baterías o un generador de energía. La unidad lectora puede comprender una unidad de almacenamiento de datos y puede conectarse a una unidad de impresora. La unidad lectora también puede comprender una interfaz de usuario y una unidad de visualización que puede mostrar la concentración de los analitos retenidos en la al menos una zona de detección. En una realización, el sistema puede medir la concentración de al menos dos analitos en una muestra líquida, como al menos tres analitos, como al menos cuatro analitos, como al menos cinco analitos.

El dispositivo de la presente invención es fácil de operar y, por lo tanto, particularmente adecuado para la monitorización doméstica. Se espera que el uso del dispositivo de la presente invención produzca beneficios económicos para la sociedad, ya que será más barato de usar que las pruebas disponibles actualmente que solo pueden realizarse en entornos de laboratorio, como una práctica médica, y por lo tanto requieren operadores capacitados, como técnicos de laboratorio o enfermeras. También se espera que el presente dispositivo dé como resultado consultas limitadas, que a menudo resultan innecesarias después de que se hayan realizado.

El presente dispositivo también es adecuado para el diagnóstico en el punto de atención y la monitorización de la progresión de la enfermedad o la respuesta a un tratamiento. Por ejemplo, se puede utilizar para el diagnóstico en ambulancias, lo que permite un diagnóstico más rápido y económico que si el paciente tuviera que ser llevado al hospital para su examen.

Descripción de los dibujos

La figura 1 muestra una vista esquemática y simplificada de una realización del dispositivo.

La figura 2 muestra una vista esquemática detallada de una realización del dispositivo.

La figura 3 muestra una representación esquemática de cómo realizar mediciones.

La figura 4 es un diagrama esquemático de una posible realización del sistema.

La figura 5 es una representación esquemática de una realización del dispositivo y 4 resultados posibles.

La figura 6 es una representación esquemática de una realización del sistema.

Descripción detallada de los dibujos

La figura 1 muestra una vista esquemática y simplificada de una realización del dispositivo. Una tira con una zona de aplicación (a la izquierda de la línea de puntos) y dos zonas de detección I y II (a la derecha de la línea de puntos). La flecha representa la dirección de la migración (de izquierda a derecha).

La figura 2 muestra una vista esquemática detallada de una realización de la presente invención. En la zona de aplicación (no mostrada), el analito C está unido específicamente a la molécula A conjugada con el reportero D. La tira en este caso presenta tres zonas de detección (I, II y III en gris oscuro). La molécula B específica, que es capaz de unirse específicamente al analito C, se inmoviliza en la superficie de la zona de detección I. Tras la migración, B se une al complejo ADC, que se retiene en la zona I. La molécula E es un control negativo inmovilizado en la superficie de la zona de detección II, y no se une a AD o C. La molécula F es un control positivo capaz de unirse a la molécula específica A conjugada con D. La flecha muestra la dirección de la migración.

La figura 3 muestra una representación de diagrama de flujo de una posible realización del sistema, con una o dos zonas de detección. ΔZ : variación en la impedancia.

La figura 4 es un diagrama esquemático de una posible realización del sistema. Aquí se introduce una tira en un sistema que comprende baterías, sensores electroquímicos u ópticos, un sensor de temperatura, un amplificador/filtro,

un convertidor A/D, una unidad PSD (procesamiento de señal digital), una unidad de visualización e interfaz de usuario.

La figura 5 es una representación esquemática de una realización del dispositivo y 4 resultados posibles. (1) muestra las diferentes zonas de la tira. (I) es la almohadilla de muestra (zona de aplicación) a la que se aplica la muestra que contiene los analitos C; (II) es una almohadilla conjugada, que comprende la molécula específica A unida al reportero D. Aquí es donde el analito C se une a AD para formar el complejo ADC. (III) es la primera zona de detección, en la que se inmoviliza la molécula B específica. (IV) es la segunda zona de detección, en este ejemplo, la zona de control positivo, en la que se inmoviliza una molécula F (que se une a la molécula A en este ejemplo). (V) es una almohadilla absorbente.

10

(2), (3), (4) y (5) muestran diferentes resultados posibles. (2) El complejo ADC se retiene en III a través de la unión de C a la molécula específica B. El complejo AD en exceso (no unido a C) también se retiene en IV a través de la unión de A a la molécula de control positiva F. Esta prueba es válida y positiva. (3) El complejo ADC no se retiene en III a través de la unión de C a la molécula específica B. El complejo AD se retiene en IV a través de la unión de A a la molécula de control positiva F. Esta prueba es válida y negativa. (4) El complejo ADC se retiene en III a través de la unión de C a la molécula específica B. El complejo AD no se retiene en IV a través de la unión de A a la molécula de control positiva F. Esta prueba no es válida. (5) El complejo ADC no se retiene en III a través de la unión de C a la molécula específica B. El complejo AD no se retiene en IV a través de la unión de A a la molécula de control positiva F. Los complejos AD y ADC no migraron y todavía están en la zona de aplicación. Esta prueba no es válida.

20

La figura 6 es una representación esquemática de una realización del sistema. La figura muestra una parte de una tira que tiene una zona de detección y una zona de control. La zona de detección y la zona de control tienen cada una cuatro electrodos de impedancia (cuadrados). Dos electrodos capacitivos (líneas en negrita) se encuentran fuera de la zona de detección y dos electrodos capacitivos (líneas en negrita) se encuentran fuera de la zona de control. ΔZ es el cambio en la impedancia: $\Delta Z = Z_{\text{detección}} - Z_{\text{control}}$. ΔC es el cambio en la capacitancia: $\Delta C = C_{\text{detección}} - C_{\text{control}}$.

25

Artículos

Los siguientes artículos no se interpretarán como reivindicaciones.

30

Artículo 1: Un dispositivo para medir la concentración en un analito en una muestra líquida midiendo los cambios inducidos en las propiedades eléctricas, consistiendo dicho dispositivo en:

- al menos una zona de aplicación que permite la aplicación de una muestra líquida, comprendiendo la zona de aplicación al menos una molécula A capaz de unirse específicamente a un analito C, estando acoplada dicha al menos una molécula específica A a un reportero D, no estando inmovilizada dicha al menos una molécula A en la superficie de la zona de aplicación, y donde dicho reportero D es capaz de afectar la impedancia y/o capacitancia;
- al menos una zona de detección que comprende al menos una molécula B capaz de unirse específicamente a dicho analito C, estando inmovilizada dicha al menos una molécula B en la superficie de la al menos una zona de detección, donde la al menos una molécula específica A y la al menos una molécula específica B pueden unirse al analito C simultáneamente; y
- en el que la zona de aplicación y la al menos una zona de detección están conectadas de manera que los analitos contenidos en la muestra líquida aplicada a la zona de aplicación pueden migrar desde la zona de aplicación a la al menos una zona de detección.

45

Artículo 2: El dispositivo según el artículo 1, en el que las moléculas A y B, que son capaces de unirse específicamente al analito C, son anticuerpos.

Artículo 3: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que las moléculas A y/o B, que son capaces de unirse específicamente al analito C, son anticuerpos policlonales.

50

Artículo 4: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que las moléculas A y/o B, que son capaces de unirse específicamente al analito C, son anticuerpos monoclonales.

Artículo 5: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que una de las moléculas A y B, que son capaces de unirse específicamente al analito C, es un anticuerpo policlonal, y la otra de las moléculas A y B es un anticuerpo monoclonal.

55

Artículo 6: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que el analito C es un marcador biológico.

60

Artículo 7: El dispositivo según el artículo 6, en el que el analito C es un marcador biológico para una infección bacteriana, viral o fúngica, para una enfermedad o afección médica o para la gravedad o actividad de una enfermedad o afección médica.

5 Artículo 8: El dispositivo según el artículo 7, en el que el analito C es un marcador biológico para una enfermedad o afección médica seleccionada de entre el grupo de: infecciones bacterianas, virales o fúngicas, inflamación, cáncer, enfermedades autoinmunes como artritis, reumatismo, polimialgia reumática, lupus eritematoso sistémico (LES), respuesta inflamatoria o infección bacteriana, viral o fúngica después del trasplante o implantación.

10 Artículo 9: El dispositivo según cualquiera de los artículos 6 a 8, en el que el analito C es un antígeno.

Artículo 10: El dispositivo según cualquiera de los artículos 6 a 9, en el que el analito C es una proteína.

15 Artículo 11: El dispositivo según el artículo 10, en el que el analito C es una proteína seleccionada de entre el grupo que consiste en la proteína C reactiva PCR, la proteína tumoral 53, el factor reumatoide, los anticuerpos anti-dsADN.

Artículo 12: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que el reportero D es un metal.

20 Artículo 13: El dispositivo según el artículo 12, en el que el reportero D es una partícula metálica coloidal o una partícula metálica no coloidal.

Artículo 14: El dispositivo según cualquiera de los artículos 12 a 13, en el que la partícula de metal coloidal es una partícula de metal noble o una combinación de partículas de metal noble.

25 Artículo 15: El dispositivo según el artículo 14, en el que el metal noble se selecciona de entre el grupo que consiste en oro, plata, platino.

Artículo 16: El dispositivo según el artículo 15, en el que el metal noble es oro.

30 Artículo 17: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que el reportero D está acoplado a la al menos una molécula específica A por adsorción o por unión covalente.

Artículo 18: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que la zona de aplicación a la que se aplica la muestra consiste en un contenedor.

35

Artículo 19: El dispositivo según cualquiera de los artículos 1 a 17, en el que la zona de aplicación consiste en una tira.

Artículo 20: El dispositivo según el artículo 19, en el que la tira comprende papel secante y una membrana.

40 Artículo 21: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que la al menos una zona de detección consiste en una tira.

Artículo 22: El dispositivo según el artículo 21, en el que la tira consiste en papel secante en contacto con una membrana en la que se une la al menos una molécula B específica.

45

Artículo 23: El dispositivo según el artículo 22, donde la al menos una molécula B específica se inmoviliza en la membrana de la al menos una zona de detección mediante uno de los siguientes procedimientos: unión por afinidad, unión covalente.

50 Artículo 24: El dispositivo según cualquiera de los artículos 22 a 23, en el que la membrana se selecciona de entre el grupo de membranas de fluoruro de polivinilideno (PVDF), membranas de nitrocelulosa y membranas de nylon.

Artículo 25: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que la al menos una zona de detección se divide en al menos dos zonas de detección, como al menos tres zonas de detección, como al menos cuatro zonas de detección, como al menos cinco zonas de detección.

55

Artículo 26: El dispositivo según el artículo 25, en el que cada zona de detección i contiene una molécula inmovilizada B_i diferente de la molécula inmovilizada B_j presente en cualquier otra zona de detección j , donde i y j son números enteros.

60

Artículo 27: El dispositivo según el artículo 26, en el que la zona de aplicación contiene una serie de moléculas específicas A_k , en las que k es un número entero.

Artículo 28: El dispositivo según el artículo 27, en el que cada una de las moléculas específicas A_k está acoplada a reporteros D idénticos o diferentes.

Artículo 29: El dispositivo según el artículo 28, en el que al menos una de las zonas de detección es una zona de control negativo, en la que se inmoviliza una molécula E que no es capaz de unirse a ninguno de los analitos C, de los reporteros D, de las moléculas específicas A o de las moléculas específicas B.

10

Artículo 30: El dispositivo según el artículo 29, en el que hay al menos dos zonas de control negativo.

Artículo 31: El dispositivo según cualquiera de los artículos 29 a 30, en el que hay dos zonas de control negativo.

15 Artículo 32: El dispositivo según el artículo 31, en el que las dos zonas de control negativo no son adyacentes.

Artículo 33: El dispositivo según el artículo 28, en el que una de las zonas de detección permite un control positivo para asegurar que se produzca la migración adecuada de los analitos entre la aplicación y la zona de detección.

20 Artículo 34: El dispositivo según el artículo 33, en el que una molécula F está inmovilizada en la superficie de la zona de control positivo, siendo dicha molécula F capaz de unirse a al menos una de las moléculas específicas A, estando unida dicha al menos una molécula específica A al reportero D.

Artículo 35: El dispositivo según el artículo 33, en el que la zona de detección que comprende el control positivo es la zona de detección más alejada de la zona de aplicación.

25

Artículo 36: El dispositivo según cualquiera de los artículos anteriores, en el que el dispositivo está contenido en una carcasa que impide el derrame de la muestra líquida y la contaminación por agentes externos.

30 Artículo 37: Un procedimiento para medir la concentración de al menos un analito C en una muestra líquida, consistiendo dicho procedimiento en:

- i) aplicar una muestra líquida a una zona de aplicación, comprendiendo la zona de aplicación al menos una molécula A capaz de unirse específicamente a un analito C, estando acoplada dicha al menos una molécula específica A a un reportero D, no estando inmovilizada dicha al menos una molécula A en la superficie de la zona de aplicación, de manera que el analito C de la muestra se une a la al menos una molécula específica A conjugada con el reportero D;
- ii) permitir la migración de los analitos contenidos en la zona de aplicación a una zona de detección que comprende al menos una molécula B capaz de unirse específicamente a dicho analito C, estando inmovilizada dicha al menos una molécula B en la superficie de la al menos una zona de detección, donde la al menos una molécula específica A y la al menos una molécula específica B pueden unirse al analito C simultáneamente;
- iii) donde la al menos una molécula B inmovilizada capaz de unirse específicamente al analito C retendrá el analito C conjugado con el reportero D;
- iv) medir la impedancia y/o la capacitancia en la al menos una zona de detección; y
- v) opcionalmente comparar la impedancia y/o la capacitancia de la zona de detección con la impedancia y/o la capacitancia en otra zona de detección sin reportero D.

35

40

45

Artículo 38: El procedimiento según el artículo 37, en el que la migración de los analitos es el resultado de la capilaridad o la cromatografía en papel.

50

Artículo 39: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 38, en el que la zona de aplicación del dispositivo contiene un conjunto de moléculas A_k que se une específicamente a un analito C_m , y en el que la al menos una zona de detección del dispositivo contiene cada una una molécula inmovilizada B_i diferente de la molécula inmovilizada B_j presente en cualquier otra zona de detección j , donde i, j, k y m son números enteros.

55

Artículo 40: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 39, en el que la muestra líquida es una muestra corporal aislada de un organismo seleccionado de entre el grupo que consiste en humanos, animales de granja, mascotas y plantas.

60 Artículo 41: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 40, en el que la muestra corporal se selecciona

de entre el grupo que consiste en una muestra de sangre, una muestra de líquido intersticial y una muestra de orina.

Artículo 42: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 41, en el que la muestra líquida es una muestra de sangre.

5

Artículo 43: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 42, en el que se mide la concentración de más de un analito, como la concentración de al menos dos analitos, al menos tres analitos, al menos cuatro analitos, al menos cinco analitos.

10 Artículo 44: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 43, en el que se mide la concentración de dos analitos.

Artículo 45: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 44, en el que el cambio en la impedancia y/o la capacitancia se mide mediante un conjunto de al menos dos electrodos, como un conjunto de dos electrodos, tres electrodos, cuatro electrodos.

15

Artículo 46: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 45, en el que el cambio en la impedancia y/o la capacitancia se mide mediante un conjunto de cuatro electrodos.

20 Artículo 47: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 46, en el que el cambio en la impedancia y/o la capacitancia se mide mediante un conjunto de tres electrodos.

Artículo 48: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 45, en el que el cambio en la impedancia y/o la capacitancia se mide mediante un conjunto de dos electrodos.

25

Artículo 49: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 48, en el que los electrodos se fabrican a partir de un metal.

Artículo 50: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 49, en el que los electrodos se fabrican a partir de un metal seleccionado de entre el grupo de metales nobles.

30

Artículo 51: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 50, en el que los electrodos se fabrican a partir de un metal noble seleccionado de entre el grupo de oro, plata, platino, iridio, platino, osmio, rodio y rutenio, o una aleación de los mismos.

35

Artículo 52: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 51, en el que los electrodos se fabrican de oro.

Artículo 53: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 52, en el que los electrodos se ajustan a la impedancia del reportero D.

40

Artículo 54: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 52, en el que los electrodos se ajustan a la impedancia de las zonas de detección.

Artículo 55: El procedimiento según cualquiera de los artículos 37 a 54, en el que hay al menos dos zonas de detección, como al menos tres zonas de detección, como al menos cuatro zonas de detección, como al menos cinco zonas de detección.

45

Artículo 56: El procedimiento según el artículo 55, en el que las impedancias de las al menos dos zonas de detección se miden simultáneamente.

50

Artículo 57: El procedimiento según el artículo 55, en el que las impedancias de las al menos dos zonas de detección se miden secuencialmente.

Artículo 58: El procedimiento según cualquiera de los artículos 55 a 57, en el que al menos una de las zonas de detección es una zona de control negativo, en la que se inmoviliza una molécula E, que se une específicamente a analitos que no se encuentran en la muestra líquida.

55

Artículo 59: El procedimiento según el artículo 58, en el que la impedancia Z de la al menos una zona de detección se determina como la diferencia o la relación entre la impedancia Z_d de la al menos una zona de detección y la impedancia Z_n de la al menos una zona de control negativo, tal que: $Z = Z_d - Z_n$ o $Z = Z_d / Z_n$.

60

Artículo 60: El procedimiento según el artículo 59, en el que la concentración de el al menos un analito C se determina para cada una de las al menos una de las zonas de detección en función de la impedancia Z.

5 Artículo 61: Un sistema para medir la concentración de al menos un analito C en una muestra líquida, comprendiendo dicho sistema

- el dispositivo según cualquiera de los artículos 1 a 37,
- una unidad lectora para insertar dicho dispositivo,

10 - un conjunto de al menos dos electrodos capaces de medir la impedancia y/o la capacitancia de al menos una zona de detección,

- una fuente de alimentación, y
- una salida de datos.

15 Artículo 62: El sistema según el artículo 61, en el que los electrodos están comprendidos en una unidad lectora.

Artículo 63: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 62, en el que al menos la parte del dispositivo que contiene la al menos una zona de detección se puede insertar en la unidad lectora.

20 Artículo 64: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 63, en el que la unidad lectora contiene un sensor de temperatura.

Artículo 65: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 64, en el que el sistema comprende una interfaz de usuario.

25

Artículo 66: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 65, adaptado para medir la concentración de más de un analito, como la concentración de al menos dos analitos, al menos tres analitos, al menos cuatro analitos, al menos cinco analitos.

30 Artículo 67: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 66, adaptado para medir la concentración de dos analitos.

Artículo 68: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 67, en el que el dispositivo y el conjunto de al menos dos electrodos pueden moverse uno con respecto al otro.

35 Artículo 69: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 68, en el que el sistema comprende una unidad de visualización.

Artículo 70: El sistema según el artículo 69, en el que el sistema muestra la concentración del analito presente en la zona de detección a la cual están conectados los electrodos.

40

Artículo 71: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 70, en el que la energía es provista por baterías.

Artículo 72: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 71, en el que el sistema es portátil.

45 Artículo 73: El sistema según el artículo 72, en el que el sistema es de mano.

Artículo 74: El sistema según cualquiera de los artículos 61 a 72, en el que el sistema comprende medios para la comunicación inalámbrica de datos.

50 Artículo 75: Uso de un sistema según cualquiera de los artículos 61 a 74 para determinar la concentración de al menos un analito en una muestra líquida.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para medir la concentración de al menos un analito C en una muestra líquida, consistiendo dicho procedimiento en:
- 5
- i) aplicar una muestra líquida a una la zona de aplicación ubicada e una tira, comprendiendo la zona de aplicación al menos un anticuerpo A capaz de unirse específicamente a un analito C, estando acoplado dicho al menos un anticuerpo específico A a un reportero metálico D, no estando inmovilizado dicho al menos un anticuerpo A en la superficie de la zona de aplicación, de modo que el analito C de la muestra se une al al menos un anticuerpo específico A conjugado con el reportero metálico D;
- 10
- ii) permitir la migración de los analitos contenidos en la zona de aplicación a una zona de detección ubicada en dicha tira que comprende al menos un anticuerpo B capaz de unirse específicamente a dicho analito C, estando inmovilizado dicho al menos un anticuerpo B en la superficie de la al menos una zona de detección, donde el al menos un anticuerpo específico A y el al menos un anticuerpo específico B pueden unirse al analito C simultáneamente;
- 15
- iii) donde el al menos un anticuerpo B inmovilizado capaz de unirse específicamente al analito C retendrá el analito C conjugado con el reportero metálico D a través del anticuerpo A;
- iv) medir los cambios inducidos en las propiedades eléctricas en la al menos una zona de detección utilizando al menos dos electrodos de impedancia en contacto con la zona de detección; y
- 20
- v) opcionalmente comparar la impedancia y/o la capacitancia de la zona de detección con la impedancia y/o la capacitancia en otra zona de detección sin reportero metálico D.
2. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que la migración de los analitos es el resultado de la capilaridad o la cromatografía en papel.
- 25
3. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que la zona de aplicación del dispositivo contiene un conjunto de anticuerpos A_k que se une cada uno específicamente a un analito C_m , y en el que la al menos una zona de detección del dispositivo contiene cada una un anticuerpo inmovilizado B_i diferente del anticuerpo inmovilizado B_j presente en cualquier otra zona de detección j , donde i, j, k y m son números enteros.
- 30
4. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el cambio en la impedancia y/o la capacitancia se mide mediante un conjunto de al menos tres electrodos, como un conjunto de cuatro electrodos.
5. El procedimiento según la reivindicación 4, en el que los electrodos se fabrican a partir de un metal noble seleccionado de entre el grupo de oro, plata, platino, iridio, platino, osmio, rodio y rutenio, o una aleación de los mismos, preferentemente oro.
- 35
6. El procedimiento según las reivindicaciones 4 o 5 en el que los electrodos son electrodos de impedancia o electrodos capacitivos.
- 40
7. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en el que los electrodos se ajustan a la impedancia del reportero metálico D y/o las zonas de detección.
8. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que al menos una de las zonas de detección es una zona de control negativo, en la que se inmoviliza un anticuerpo E, que se une específicamente a analitos que no se encuentran en la muestra líquida.
- 45
9. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la impedancia de la al menos una zona de detección se determina como la diferencia o la relación entre la impedancia Z_d de la al menos una zona de detección y la impedancia Z_c de la al menos una zona de control negativo, de modo que la impedancia Z viene dada por la fórmula: $\Delta Z = Z_d - Z_c$ o $\Delta Z = Z_d / Z_c$.
- 50
10. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la capacitancia de la al menos una zona de detección se determina como la diferencia o la relación entre la capacitancia C_d de la al menos una zona de detección y la capacitancia C_c de la al menos una zona de control negativo, de modo que la capacitancia C viene dada por la fórmula: $\Delta C = C_d - C_c$ o $\Delta C = C_d / C_c$.
- 55
11. Un dispositivo para medir la concentración de un analito en una muestra líquida midiendo los cambios inducidos en las propiedades eléctricas, comprendiendo dicho dispositivo:
- 60

- al menos una zona de aplicación ubicada en una tira que permite la aplicación de una muestra líquida, comprendiendo la zona de aplicación al menos un anticuerpo A capaz de unirse específicamente a un analito C, estando acoplado dicho al menos un anticuerpo específico A a un reportero metálico D, no estando inmovilizado dicho al menos un anticuerpo A en la superficie de la zona de aplicación, y donde dicho reportero metálico D es capaz de afectar las propiedades eléctricas;
- 5
- al menos una zona de detección ubicada en una tira que comprende al menos un anticuerpo B capaz de unirse específicamente a dicho analito C, estando inmovilizado dicho al menos un anticuerpo B en la superficie de la al menos una zona de detección, donde el al menos un anticuerpo específico A y el al menos un anticuerpo específico B pueden unirse simultáneamente al analito C y donde dicha zona de detección está en contacto con al menos dos electrodos
- 10 de impedancia; y
- en el que la zona de aplicación y la al menos una zona de detección están conectadas de manera que los analitos contenidos en la muestra líquida aplicada a la zona de aplicación pueden migrar desde la zona de aplicación a la al menos una zona de detección, donde un aumento en la concentración de las moléculas conjugadas con el reportero metálico en la zona de detección induce cambios detectables en la impedancia de la zona de detección que pueden
- 15 medirse con dichos electrodos de impedancia en contacto con la zona de detección.
12. El dispositivo según la reivindicación 11, en el que el analito C es una proteína tal como la proteína C reactiva PCR, la proteína tumoral 53, el factor reumatoide y los anticuerpos anti-dsADN y/o en el que el reportero metálico D es una partícula metálica coloidal o una partícula metálica no coloidal, como oro, plata o platino.
- 20
13. Un sistema para medir la concentración de al menos un analito C en una muestra líquida, comprendiendo dicho sistema
- el dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12,
- 25 - una unidad lectora para insertar dicho dispositivo,
- un conjunto de al menos dos electrodos capaces de medir la impedancia y/o la capacitancia de la al menos una zona de detección,
- una fuente de alimentación y una salida de datos.
- 30 14. El sistema según la reivindicación 13, donde los al menos dos electrodos son electrodos de impedancia o electrodos capacitivos.
15. El sistema según la reivindicación 13, que comprende al menos dos electrodos de impedancia y al menos dos electrodos capacitivos.

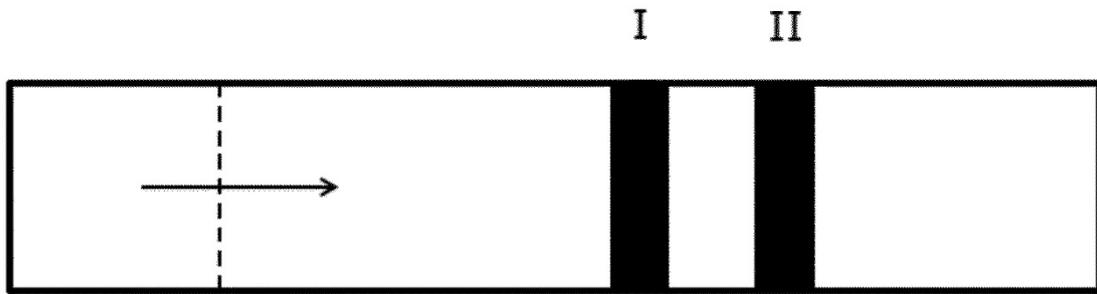


FIG. 1

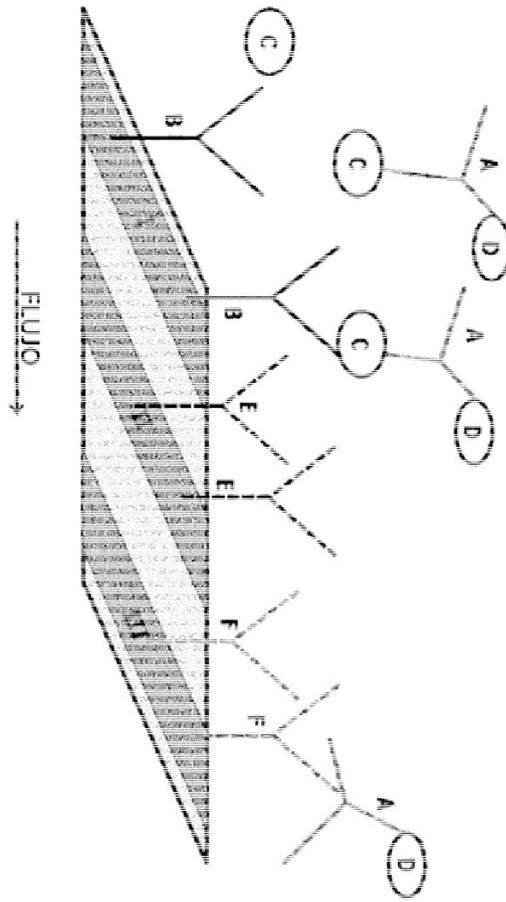


FIG. 2

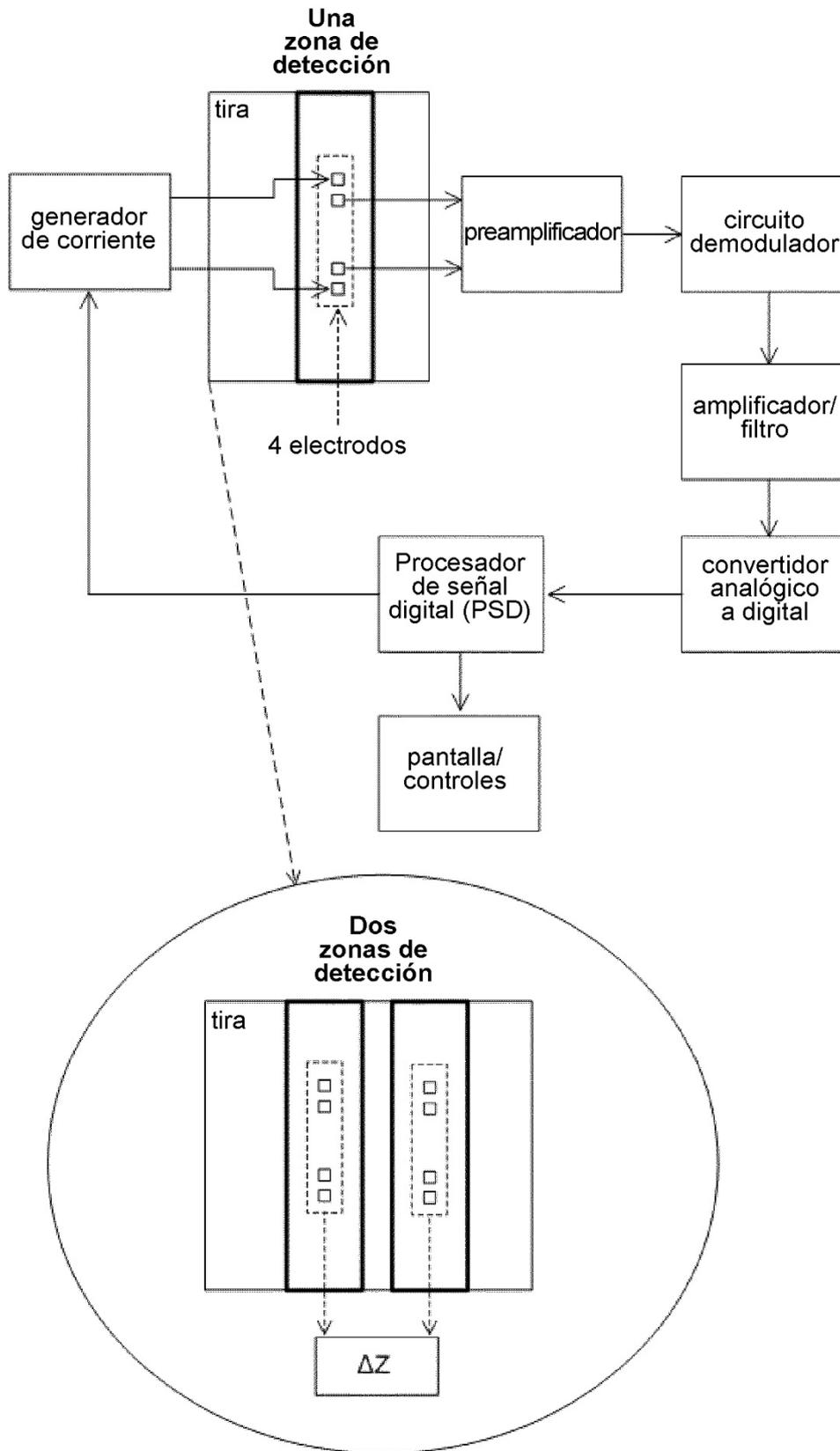


FIG. 3

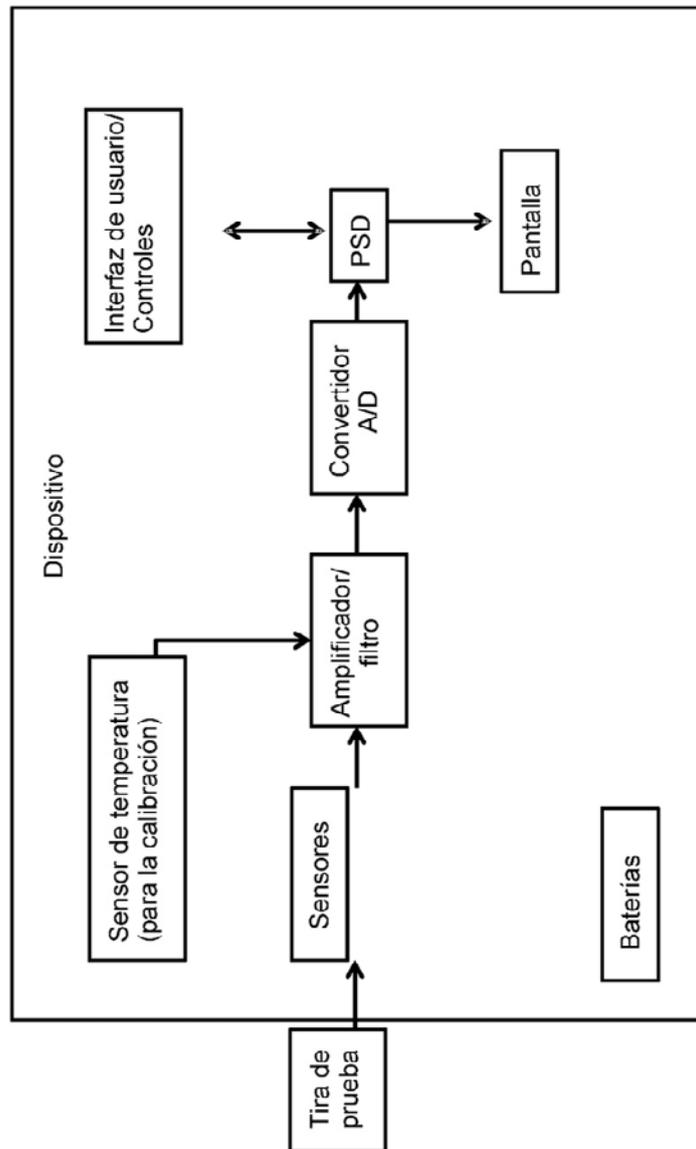


FIG. 4

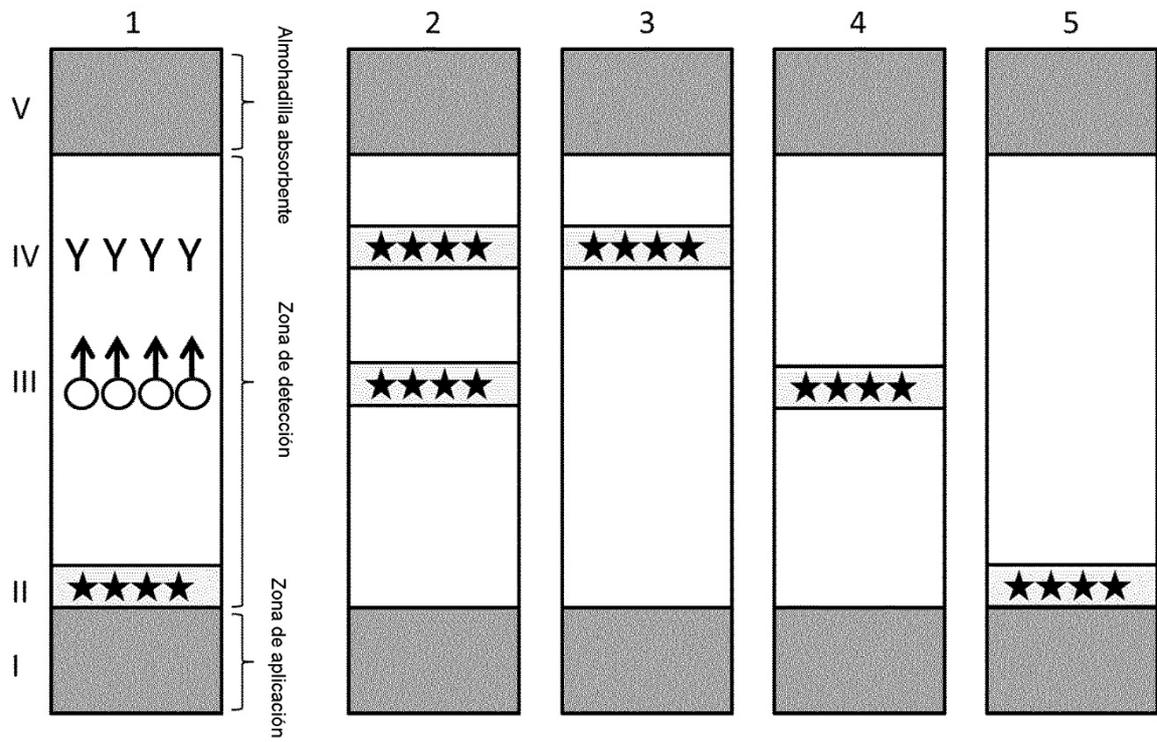


FIG. 5

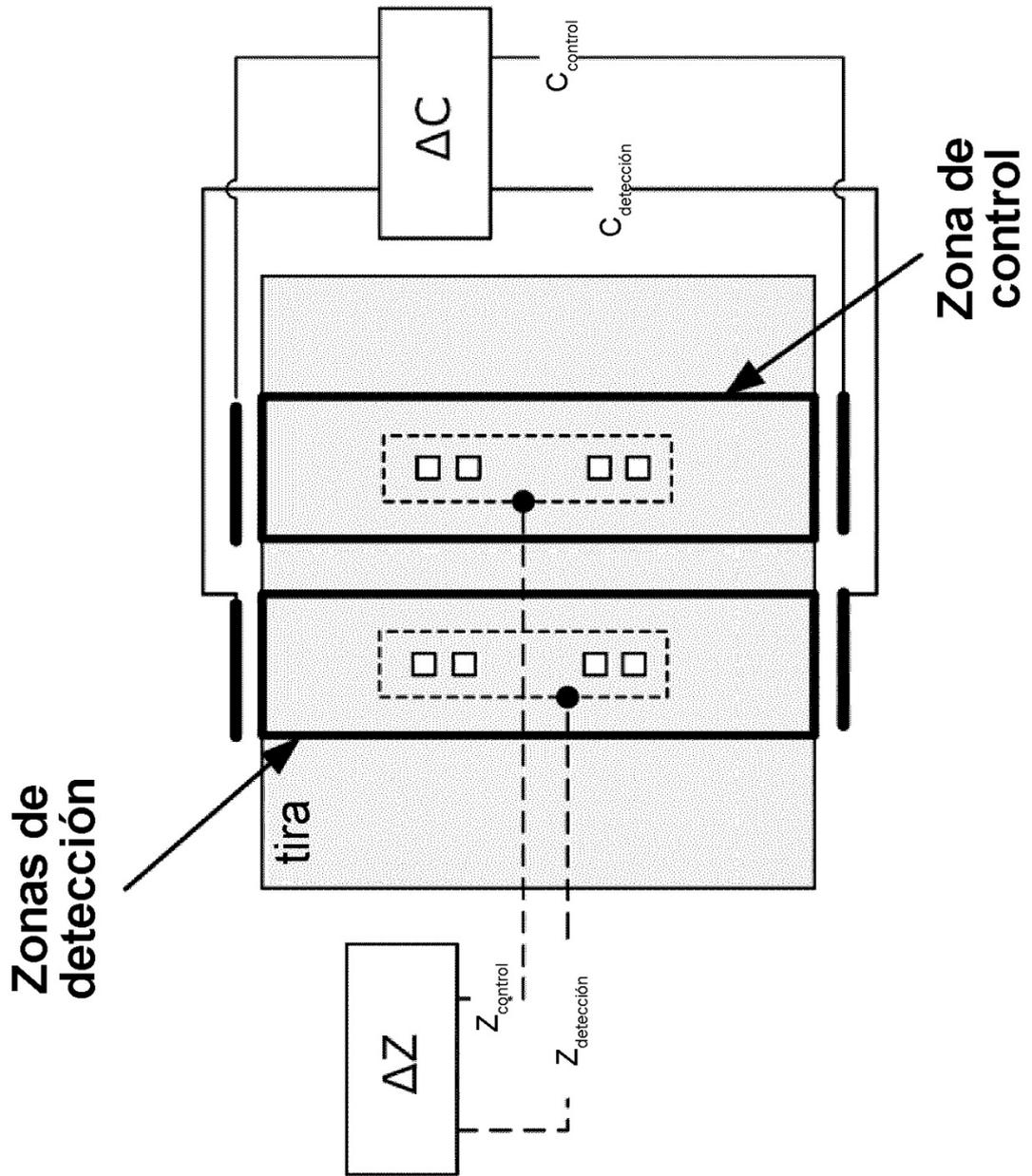


FIG. 6