

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 842 445**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/00** (2006.01)

**G01N 33/543** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.08.2017 PCT/GB2017/052522**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.03.2018 WO18046890**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2017 E 17758940 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2020 EP 3509748**

54 Título: **Plataforma de dispositivo para pruebas en el punto de atención**

30 Prioridad:

**09.09.2016 GB 201615320**

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

**14.07.2021**

73 Titular/es:

**INVITRON LIMITED (100.0%)  
Wyastone Business Park  
Monmouth, Monmouthshire NP25 3SR, GB**

72 Inventor/es:

**WOODHEAD, ANDREW JAMES y  
WOODHEAD, JAMES STUART**

74 Agente/Representante:

**FERNÁNDEZ POU, Felipe**

**ES 2 842 445 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

Plataforma de dispositivo para pruebas en el punto de atención

5 Campo de la invención

La invención se refiere a un cartucho para realizar análisis de muestras en un dispositivo de prueba portátil del punto de atención (POCT); un dispositivo de ensayo en el punto de atención, que comprende dicho cartucho y un lector para alojar dicho cartucho, para detectar y/o cuantificar un analito en una muestra; y un kit de piezas que comprende dichos componentes de dicho dispositivo de ensayo del punto de atención.

Antecedentes de la Invención

15 Las pruebas de laboratorio en muestras biológicas se han usado tradicionalmente para diagnóstico, detección, estadificación de enfermedades, análisis forense, pruebas de embarazo, pruebas de drogas y otras razones. Si bien algunas pruebas cualitativas, como las pruebas de embarazo, se han reducido a simples kits para el uso doméstico del paciente, una gran cantidad de pruebas cuantitativas aún requieren procedimientos elaborados que a menudo requieren la experiencia de técnicos capacitados en un entorno de laboratorio mediante el uso de instrumentos sofisticados. En los últimos años, algunas de estas pruebas se han puesto a disposición para el análisis en el punto de atención (POC) mediante el uso de dispositivos de prueba portátiles que incorporan sensores y electrónica computacional para el análisis de muestras.

25 Las pruebas de punto de atención (POCT) son, por lo tanto, pruebas de diagnóstico 'cercanas al paciente' realizadas fuera del laboratorio analítico de rutina. Una POCT realizada cerca del paciente es ventajosa, ya que potencialmente puede proporcionar resultados rápidos que permitan a los médicos actuar antes, salvar vidas, mejorar los resultados de los pacientes y reducir los costos generales para el sistema de salud.

30 Los POCT basados en dispositivos de flujo lateral son conocidos en la técnica y se describen en 5,726,013, 2003/040021, US 2007/087357, incluido un dispositivo de microfluidos mediante el uso de flujo capilar como se describe en US2010/261286.

35 Un ejemplo de un dispositivo POC típico se basa en un inmunoensayo de flujo lateral que se basa en el uso de un reactivo de captura inmovilizado en una membrana (como una tira de nitrocelulosa) para capturar un analito de una muestra, cuyo analito transita por la membrana mediante un proceso de flujo lateral/acción capilar. El reactivo de captura es típicamente un anticuerpo y el analito unido se detecta normalmente por medio de un segundo anticuerpo marcado con una sustancia detectable visualmente como el oro coloidal. Este enfoque se ha usado ampliamente en POCT, por ejemplo, las autopruebas de embarazo que implican la detección de gonadotropina coriónica humana (HCG) en la orina. En términos generales, los POCT de inmunoensayo se han utilizado en aplicaciones en las que no se requiere una alta sensibilidad, de modo que las etiquetas que proporcionan puntos finales visuales han tenido un gran éxito. Los resultados pueden informarse visualmente (por ejemplo, prueba de embarazo de HCG) o mediante el uso de un lector electrónico (por ejemplo, el sistema de prueba de abuso de drogas Alere DDS2).

45 Ahora se aprecia ampliamente que el tiempo de respuesta reducido asociado con un POCT es un objetivo muy conveniente donde se necesita una sensibilidad de detección extremadamente alta para detectar trazas de ciertos analitos o compuestos. Sin embargo, los métodos de flujo lateral convencionales mediante el uso de oro coloidal como punto final no pueden proporcionar la sensibilidad requerida. Desafortunadamente, la alta sensibilidad de detección proporcionada por los analizadores de laboratorio de rutina a menudo implica una instrumentación compleja que no es apropiada para pruebas cercanas al paciente. Esto ha generado un interés creciente y significativo en los métodos de microfluidos (laboratorio en un chip). Hasta la fecha, ha salido al mercado una proporción muy pequeña de conceptos de POCT basados en microfluidos: más notablemente, Abbott i-STAT Cardiac Troponin (un inmunoensayo enzimático que se lleva a cabo en unas pocas gotas de sangre para la detección precoz de la angina y la oclusión de las arterias coronarias) y las pruebas Alere Triage CTnl (inmunoensayo de fluorescencia).

55 Por lo tanto, se reconoce ampliamente que los POCT actuales carecen del rendimiento analítico de las pruebas de laboratorio estándar y esto conduce a un compromiso en el valor que proporcionan, o ha llevado a sistemas complejos y costosos para lograr tal sensibilidad. Un ejemplo clave es la medición de la troponina cardíaca como marcador de infarto de miocardio, donde la sensibilidad analítica puede ser un factor que limite el diagnóstico rápido y preciso, por lo que se necesita el uso de un laboratorio de química clínica. Por tanto, existe la necesidad de una tecnología que pueda suministrar POCT rápida y de alta sensibilidad en el área de rápido crecimiento de los diagnósticos clínicos.

60 La quimioluminiscencia basada en ésteres de acridinio (AE) ofrece uno de los criterios de valoración más sensibles desarrollado para inmunoensayos y ensayos de sonda genética y se ha aplicado en el laboratorio clínico de rutina para un amplio intervalo de analitos. La alta sensibilidad de los ensayos basados en marcadores AE se debe al hecho de que la salida de quimioluminiscencia puede detectarse en un contexto que es prácticamente cero. Para aprovechar esta sensibilidad en la práctica, existe el requisito de que todo el marcador que no haya reaccionado debe retirarse del sitio de reacción antes de iniciar la reacción quimioluminiscente, es decir, el uso de la tecnología AE requiere una separación

limpia de señal/fondo. Por tanto, los métodos de ensayo convencionales que utilizan técnicas de marcaje de AE implican típicamente varias etapas de lavado para eliminar el marcador de AE no unido (fondo) y así lograr la especificidad de señal deseada. Con respecto a esto, los formatos de ensayo típicos de POCT no permiten un lavado adecuado del anticuerpo marcado específicamente unido para garantizar que se cumpla este requisito para la detección de AE. Como consecuencia, hasta la fecha, no ha habido aplicaciones exitosas de esta tecnología sensible en un formato de punto de atención.

Mediante el uso de tecnología novedosa, proporcionamos en la presente descripción un POCT basado en una clara separación entre señal/fondo que, por tanto, proporciona la sensibilidad necesaria para su uso en un ensayo de alta sensibilidad.

#### Declaraciones de la invención

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un cartucho para realizar análisis de muestras que comprende: una pluralidad de compartimientos en donde

un primer compartimiento comprende al menos una cámara de reacción para contener la muestra y que tiene unido a al menos una parte de su superficie un reactivo de captura;

un segundo compartimiento comprende al menos un receptáculo para alojar al menos un reactivo en donde dicho reactivo está en comunicación de fluidos con dicha primera cámara de reacción; y

un tercer compartimiento, integral con dicho primer o segundo compartimiento o separado del mismo, que comprende un dispositivo de extracción en comunicación de fluidos y/o operativa con dicha cámara de reacción para retirar reactivo y/o productos sin reaccionar de dicha cámara de reacción en donde dicho dispositivo de extracción comprende material transpirable o absorbente montado en un miembro móvil y que es móvil con respecto a dicho miembro de modo que dicho material pueda avanzar y/o retraerse en dicha cámara de reacción.

Preferentemente, dicha muestra es una muestra biológica. La referencia en la presente descripción a una muestra biológica se refiere a cualquier muestra aislada del cuerpo de un sujeto que incluye, pero sin limitarse a, una célula, una población de células, una biopsia, un tejido, un órgano, sangre, plasma, suero, esputo, fluido peritoneal, LCR, fluido sinovial, esperma, leche materna, fluido de lavado bronquial, fluido amniótico, ascitis maligna, fluido pleural, fluido seminal, lágrimas, orina, heces y saliva.

Alternativamente, dicha muestra biológica puede ser una línea celular o el fluido sobrenadante de células mantenidas en medio de cultivo.

La referencia en la presente descripción a un reactivo de captura se refiere a cualquier sustancia o reactivo que pueda unirse, reversible o irreversiblemente, al analito diana en dicha muestra biológica (capturándolo de la muestra biológica). De esta manera, como apreciarán los expertos en la técnica, un usuario añade una muestra biológica que tiene, o se sospecha que tiene, el analito diana a al menos una cámara de reacción en donde dicho analito (si está presente) es específicamente reconocido y unido por el reactivo de captura, de manera que pueda usarse para identificar y/o cuantificar el analito

En una modalidad preferida del primer aspecto de la invención, dicho reactivo de captura incluye, pero no se limita a, anticuerpos, aptámeros y fragmentos de los mismos, oligonucleótidos u otros ligandos o receptores específicos que comprenden una pareja de unión específica para el analito diana en la muestra biológica.

En una modalidad preferida adicional de la invención, dicho reactivo de captura se une directamente sobre al menos una parte de una superficie de la cámara de reacción por cualquier medio conocido para los expertos en la técnica, tales como, pero sin limitarse a, inmovilización por adsorción o por acoplamiento químico.

Alternativamente, dicho reactivo de captura se une indirectamente sobre al menos una parte de una superficie de la cámara de reacción mediante el uso de una sustancia de anclaje que se une al reactivo de captura. Por lo tanto, en esta modalidad, al menos una parte de la superficie de dicha cámara de reacción está recubierta con la sustancia de anclaje y dicho reactivo de captura comprende una pareja de unión que se une a la sustancia de anclaje. Lo más ideal es que dicha sustancia de anclaje se seleccione del grupo que comprende: avidinas, oligo y polinucleótidos, proteínas o lectinas que se unen a un compañero de unión en el reactivo de captura y por lo tanto hacen que el reactivo de captura se una al menos a una parte de una superficie de la cámara de reacción.

Como es conocido para los expertos en la técnica, las avidinas son miembros de una familia de proteínas, que incluyen avidina, estreptavidina y neutravidina, definidas funcionalmente por su capacidad para unirse a biotina con alta afinidad y especificidad, que sirve como su socio de unión específico. La afinidad de unión de las avidinas a la biotina, aunque no covalente, es tan alta que puede considerarse irreversible. Por tanto, en esta modalidad, dicho reactivo de captura está biotinilado. Muchos agentes pueden biotinilarse típicamente por medios químicos o enzimáticos y se conocen bien para los expertos en la técnica. Más idealmente, dicho reactivo de captura biotinilado es un anticuerpo biotinilado.

Las lectinas son proteínas de unión específicas de carbohidratos de origen natural que se unen de forma selectiva a grupos de carbohidratos tales como restos de azúcar típicos. Las lectinas realizan reconocimiento a nivel celular y

molecular y desempeñan numerosas funciones en los fenómenos de reconocimiento biológico que involucran células, carbohidratos y proteínas. Por tanto, en esta modalidad, dichas lectinas se unen a grupos carbohidrato del reactivo de captura tales como, pero sin limitarse a, los que se encuentran en los anticuerpos y fragmentos de los mismos.

5 Los oligos y polinucleótidos pueden unirse para capturar reactivos a través de moléculas de nucleótidos complementarios y estos nucleótidos complementarios pueden usarse para modificar reactivos de captura con el fin de provocar la unión requerida.

10 Más idealmente, dicha sustancia de anclaje es una avidina y dicho reactivo de captura comprende una pareja de unión a biotina o viceversa. Más idealmente, dicha sustancia de anclaje es estreptavidina y dicho reactivo de captura comprende una pareja de unión a biotina o viceversa.

15 En otra modalidad preferida adicional del primer aspecto de la invención, dicha cámara de reacción tiene forma de un pozo que comprende una base en donde dicha base está recubierta con el reactivo de captura y/o sustancia de anclaje.

En todavía una modalidad preferida adicional, dicho primer compartimiento comprende una pluralidad de cámaras de reacción.

20 En una modalidad preferida adicional, dicho primer compartimiento comprende una cámara de reacción en forma de pocillo a la parte inferior del cual se unen una pluralidad de reactivos de captura, idealmente en sitios discretos, cada uno específico para un analito diana diferente en dicha muestra. Como apreciarán los expertos en la técnica, esto permitirá el análisis de varios analitos diferentes en una sola muestra. Además, los expertos en la técnica apreciarán que la salida de luz de fuentes separadas espacialmente puede resolverse mediante el uso de diversas tecnologías de medición de luz como, pero sin limitarse a, CCD, sensores CMOS y series de fotodiodos.

25 En otra modalidad preferida, el contenido de la cámara de reacción se mezcla durante la incubación. Los métodos de agitación pueden implicar agitación o vibración del cartucho, mezcla magnética de partículas o elemento de agitación, u otros métodos de agitación tales como, pero sin limitarse a, sonicación.

30 Un experto en la técnica apreciará que el reactivo de captura o la sustancia de anclaje pueden acoplarse a partículas paramagnéticas que pueden añadirse a la cámara de reacción como una suspensión. Una modalidad preferida de la invención implica la introducción de analito diana y un reactivo de captura de partículas en donde las partículas pueden eliminarse de la suspensión mediante electroimanes dispuestos adecuadamente antes de la eliminación de los componentes que no han reaccionado.

35 En una modalidad preferida adicional, dicho segundo compartimiento comprende una pluralidad de receptáculos para alojar varios reactivos diferentes en donde cada receptáculo está en comunicación de fluidos con la cámara de reacción. Alternativamente, dicho cartucho comprende varios compartimientos adicionales en donde al menos uno incluye al menos un receptáculo para alojar un reactivo en donde dicho reactivo está en comunicación de fluidos con dicha cámara de reacción. Idealmente, todos dichos compartimientos adicionales incluyen al menos un receptáculo.

40 En una modalidad preferida, dicho reactivo incluye, pero no se limita a, un reactivo de lavado, un reactivo marcador o marcado, un reactivo de detección, un reactivo de captura o similar.

45 La referencia en la presente descripción al reactivo de lavado se refiere a soluciones que contienen agentes tamponantes, surfactantes y otros compuestos diseñados para reducir la unión no específica del reactivo marcado.

50 La referencia en la presente descripción a un reactivo marcador o marcado se refiere a cualquier reactivo que se una al analito diana, en donde dicho marcaje o reactivo marcado está directa o indirectamente enlazado a un indicador o sistema de marcaje como una enzima que cataliza el desarrollo del color, un cromóforo o un luminóforo (por ejemplo, un marcador fluorescente, fosforescente, bioluminiscente o quimioluminiscente); un modulador de emisiones de una molécula o ión fluorescente, fosforescente, quimioluminiscente o bioluminiscente; un cofactor para una reacción quimioluminiscente o bioluminiscente; una micro o nanopartícula detectable tal como, pero sin limitación, una partícula coloreada o magnética. Con mayor preferencia, los sistemas indicadores o de marcaje incluyen, pero no se limitan a, sistemas ELISA convencionales o sistemas indicadores bioluminiscentes, quimioluminiscentes o pigmentados. Con la máxima preferencia, dicho reactivo marcador o marcado incluye, pero no se limita a, anticuerpos, aptámeros y fragmentos de los mismos, u otros ligandos o receptores específicos y dicho reactivo marcador comprende un éster de acridinio que forma parte de un sistema de marcado quimioluminiscente.

60 La referencia en la presente descripción a reactivo de detección se refiere a cualquier agente que se requiera para iniciar una reacción luminiscente, tal como una reacción bioluminiscente o quimioluminiscente. Dicho reactivo puede ser un agente oxidante, un catalizador o un sustrato, por ejemplo, los ésteres de acridinio experimentan una reacción emisora de luz en presencia de un agente oxidante en condiciones alcalinas, por lo que un reactivo de detección incluye un agente oxidante y/o una solución alcalina. Como apreciarán los expertos en la técnica, la naturaleza del reactivo de detección será dependiente de la naturaleza del indicador o sistema de marcado. Con la máxima preferencia, dicho agente de detección es para la detección de un marcador quimioluminiscente que experimenta una reacción de emisor

de luz después de la adición secuencial de peróxido de hidrógeno en ácido y una solución alcalina, por lo que dicho reactivo de detección es peróxido de hidrógeno en ácido y/o una solución alcalina.

5 Además, como apreciarán los expertos en la técnica, en las modalidades en donde dicho reactivo de captura se recubre indirectamente sobre al menos una parte de una superficie de la cámara de reacción mediante el uso de una sustancia de anclaje que se une al reactivo de captura, dicho reactivo de captura puede estar alojado en el receptáculo. De esta manera, dicho reactivo de captura puede añadirse luego a la cámara de reacción en donde luego se une a la sustancia de anclaje. Ventajosamente, cuando se usan una pluralidad de cámaras de reacción, esto permite añadir diferentes agentes de captura a diferentes cámaras de reacción para la detección de diferentes analitos. Además, esto es ventajoso desde el punto de vista de la fabricación, ya que puede usarse una única sustancia de anclaje para revestir cada cámara de reacción que luego puede proporcionarse con un reactivo de captura diferente de acuerdo con los diferentes analitos a detectar.

15 En una modalidad preferida, al menos uno de dichos receptáculos aloja el reactivo de lavado, al menos uno de dichos receptáculos aloja el reactivo de detección y al menos uno de dichos receptáculos aloja el reactivo de captura. Más idealmente, al menos uno de dichos receptáculos aloja reactivo de lavado, al menos uno de dichos receptáculos aloja un primer reactivo de detección, al menos uno de dichos receptáculos aloja un segundo reactivo de detección, al menos uno de dichos receptáculos aloja un reactivo de captura, y al menos uno de dichos receptáculos aloja el reactivo marcador. De manera más ideal, el primer reactivo de detección es peróxido de hidrógeno en ácido, el segundo reactivo de detección es una solución alcalina, el reactivo de captura es un anticuerpo biotinilado y el reactivo marcador es un anticuerpo marcado con AE.

25 En otra modalidad preferida adicional, dicho receptáculo incluye una bomba para bombear dicho reactivo a dicha cámara de reacción. Opcionalmente, dicho receptáculo también incluye una válvula para controlar el flujo de reactivo en dicha cámara de reacción. El cartucho puede incluir una sola bomba que controla el movimiento de diferentes fluidos (por ejemplo, los diferentes reactivos y/o una muestra de fluido), o alternativamente, una pluralidad de bombas, una de las cuales, por ejemplo, controla el movimiento de la muestra de fluido, y al menos una de las cuales controla el movimiento de la pluralidad de reactivos diferentes. En un aspecto, el cartucho incluye una pluralidad de bombas y el movimiento de cada uno de los diferentes fluidos está controlado por una bomba diferente.

30 En una modalidad alternativa, cada reactivo se aloja en una bolsa sellada contenida dentro del receptáculo, estando dicha bolsa muy próxima a un conducto que conduce a la cámara de reacción. La aplicación de presión a la bolsa por un activador hace que libere su contenido en el conducto y lo suministre a dicha cámara de reacción.

35 El orden y la sincronización del flujo de uno o más reactivos a la cámara de reacción pueden variar en dependencia de la prueba que se esté empleando, así como también del tipo de fluido contenido en los respectivos receptáculos.

40 En una modalidad, el primer receptáculo comprende un reactivo marcador o marcado, un segundo receptáculo comprende un reactivo de lavado y un tercer receptáculo comprende un reactivo detector. En tal modalidad, se añade una muestra a analizar a la cámara de reacción y cualquier analito diana en la muestra se hace reaccionar, secuencial o simultáneamente, con un reactivo marcado y dicho reactivo de captura. Como resultará evidente para los expertos en la técnica, de esta forma sólo puede capturarse una porción del reactivo marcado añadido. Para asegurar que se eliminen los materiales que no han reaccionado, se elimina el fluido de la cámara de reacción mediante el uso del material absorbente que se hace avanzar hacia la cámara de reacción. En consecuencia, solo el reactivo marcado que está unido al analito capturado se une a la cámara de reacción y permanecerá. Opcionalmente, puede desplegarse un reactivo de lavado, antes o después del uso del material absorbente mencionado anteriormente. Usado de esta manera, un reactivo de lavado ayuda a eliminar el analito no unido y los materiales no deseados, reduciendo así el ruido de fondo residual. Por tanto, el material absorbente se usa para eliminar el líquido en la cámara de reacción. Esta etapa de lavado puede repetirse según sea necesario. Por último, se agrega un reactivo de detección, cuya naturaleza dependerá del tipo de marcaje o reactivo marcado utilizado. La medición de la señal de luz emitida puede usarse para detectar y cuantificar el analito diana en la muestra.

55 Como se apreciará, en modalidades alternativas en donde que se usa una sustancia de anclaje para unir el reactivo de captura a la cámara de reacción, el cartucho puede comprender además un receptáculo adicional que comprende el reactivo de captura que puede añadirse a la cámara de reacción antes del primer uso del material absorbente para que el reactivo de captura pueda unirse a la sustancia de anclaje. Preferiblemente, el reactivo de captura se agrega al mismo tiempo que el marcador o el reactivo marcado.

60 En una modalidad preferida dicho material absorbente está montado en un carrito cuyo movimiento circular, en una primera dirección, hace avanzar dicho material y cuyo movimiento circular, en una dirección opuesta, retrae dicho material. Alternativamente, dicho material se monta en un transportador cuyo movimiento, en una primera dirección, hace avanzar dicho material y cuyo movimiento, en una dirección opuesta, retrae dicho material. Idealmente, dicho miembro móvil está dispuesto de manera que dicho material, cuando avanza, se sumerge en la cámara de reacción y, cuando se retrae, se retira de dicha cámara de reacción.

65

En determinadas formas de modalidad de la invención, dicho miembro móvil está asociado con una cuchilla que corta dicho material absorbente después que se ha usado.

5 En otra modalidad preferida más, dicho cartucho comprende además un dispositivo de control que sincroniza el flujo de reactivos a la cámara de reacción y el uso de dicho material absorbente. Idealmente, el dispositivo de control asegura que los reactivos fluyan hacia la cámara de reacción y, opcionalmente, permanezcan allí durante un tiempo de incubación seleccionado, después del cual dicho material absorbente se usa para extraer cualquier fluido que quede en la cámara y no se una al reactivo de captura proporcionado en, o recubierto en, la superficie de la cámara de reacción.

10 Típicamente, la muestra biológica contendrá un analito diana de interés. La determinación, detección y/o cuantificación de dicho analito en la muestra biológica se realiza dentro del cartucho. Este análisis podría ser, por ejemplo, la determinación de analitos específicos para diferentes trastornos tales como, pero sin limitarse a, trastornos metabólicos crónicos, tales como insulina en sangre, proinsulina o péptido C (diabetes); marcadores de otras enfermedades específicas, incluidas enfermedades agudas, como marcadores de enfermedades cardíacas (por ejemplo, troponina cardíaca, NT-ProBNP), marcadores de función tiroidea (por ejemplo, determinación de la hormona estimulante de la tiroides (TSH)), marcadores tumorales y marcadores de agentes infecciosos y similares.

20 Típicamente, se llevará a cabo un procedimiento analítico en el que el analito diana en una muestra se hace reaccionar con uno o más socios de unión que proporcionan un medio de captura, así como también uno o más socios de unión que están marcados con una sustancia detectable de manera que, a continuación en dicha reacción, la cantidad de dicha sustancia detectable es una función, o función inversa, de la cantidad de dicho analito presente en dicha muestra. En un aspecto preferido de la invención, los compañeros de unión serán anticuerpos y la sustancia detectable será un compuesto capaz de tomar parte en una reacción luminiscente tal como una reacción bioluminiscente o quimioluminiscente.

25 En un aspecto más preferido de la invención, la sustancia detectable será un éster de acridinio que se detectará o cuantificará después de la adición de peróxido de hidrógeno en ácido y una solución alcalina.

30 En un aspecto adicional de la invención, se detectará más de un analito en la misma cámara de reacción mediante el uso de anticuerpos específicos para la detección de cada analito en donde dichos anticuerpos están marcados con ésteres de acridinio que se modifican químicamente para proporcionar características de emisión de luz individual con respecto, por ejemplo, a la longitud de onda o la cinética de reacción, de manera que cada anticuerpo marcado puede cuantificarse independientemente entre sí de los otros anticuerpos marcados en la misma cámara de reacción.

35 En una modalidad preferida adicional de la invención, el cartucho comprende un miembro de agitación para mezclar el contenido de la cámara de reacción. Como apreciarán los expertos en la técnica, la agitación del recipiente de reacción asegurará una velocidad máxima de reacción de los reactivos componentes. Tal agitación puede lograrse, por ejemplo, conectando la cámara de reacción a un motor de vibración, incorporando un agitador magnético dentro de la cámara de reacción o moviendo físicamente la cámara de reacción por otros medios.

40 De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona un dispositivo de ensayo en el punto de atención que comprende el cartucho como se describe en la presente descripción y un lector adaptado para permitir que el cartucho se coloque en comunicación funcional con dicho lector. Por ejemplo, el cartucho puede insertarse, colocarse o acoplarse al lector y el lector puede comprender medios de acoplamiento, como una ranura, o medios de alineación para permitir que el cartucho se inserte, coloque o fije de manera apropiada al lector.

45 En una modalidad preferida del segundo aspecto de la invención, dicho lector comprende un detector para detectar el reactivo de captura y/o reactivo marcador o marcado. Como apreciarán los expertos en la técnica, la naturaleza del detector variará dependiendo de la naturaleza del indicador o sistema de marcado del agente de captura y/o la naturaleza del reactivo marcador. Por ejemplo, los cambios en la intensidad de la fluorescencia o la longitud de onda pueden controlarse mediante el uso de un fluorímetro y los cambios análogos en la quimioluminiscencia pueden monitorearse usando un luminómetro. Más idealmente, dicho detector es un detector óptico para medir la emisión de luz. Adicionalmente o alternativamente, dicho cartucho comprende un detector.

55 En una modalidad preferida adicional del segundo aspecto de la invención, dicho lector comprende un motor que se configura para acoplar el miembro móvil de dicho cartucho cuando el cartucho se inserta en el lector y de esta manera proporcionar el avance y la retracción de dicho material absorbente.

60 Opcionalmente, dicho lector puede comprender un dispositivo de control que sincroniza el flujo de reactivos a la cámara de reacción y el uso de dicho motor. Idealmente, el dispositivo de control controla el flujo de reactivos hacia la cámara de reacción y, opcionalmente, su tiempo de permanencia allí durante un tiempo de incubación seleccionado, después del cual dicho dispositivo de control controla el movimiento de dicho material absorbente para extraer cualquier fluido remanente en la cámara y no unido al reactivo de captura.

65 En una modalidad preferida adicional del segundo aspecto de la invención se proporciona un miembro de agitación para mezclar el contenido de la cámara de reacción. Tal agitación puede lograrse, por ejemplo, conectando la cámara de

reacción a un motor de vibración, incorporando un agitador magnético dentro de la cámara de reacción o moviendo físicamente la cámara de reacción por otros medios. Idealmente, esta función también la controla el lector. Adicionalmente, el lector está configurado de modo que dicha agitación se pueda aplicar a las etapas de lavado posteriores para asegurar la máxima eliminación de los componentes reactivos que no reaccionaron.

De acuerdo con un tercer aspecto de la invención, se proporciona un kit de piezas para un dispositivo de ensayo en el punto de atención que comprende:

al menos un cartucho como se describe en la presente descripción; y

al menos un lector adaptado para comunicarse funcionalmente con dicho cartucho, de manera que los reactivos de ensayo en dicho cartucho pueden usarse para proporcionar un POCT para identificar al menos un analito en una muestra biológica.

A lo largo de toda la descripción y las reivindicaciones de esta descripción, las palabras "comprender" y "contener" y variaciones de las palabras, por ejemplo "que comprende" y "comprende", significan "que incluyen pero sin limitarse a", y no se excluyen otras porciones, aditivos, componentes, números enteros o etapas. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta descripción, el singular abarca el plural a menos que el contexto de cualquier otra manera lo requiera. En particular, donde se usa el artículo indefinido, la descripción debe entenderse como que contempla la pluralidad así como también la singularidad, a menos que el contexto de cualquier otra manera lo requiera.

No se ha admitido que alguna referencia constituya una técnica anterior. Además, no se admite que la técnica anterior forme parte del conocimiento general común en la técnica.

La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

La invención se describirá ahora a manera de ejemplo solamente con referencia a los ejemplos figuras más abajo y a las siguientes figuras en donde:

**Figura 1.** [A]Muestra una ilustración esquemática de una vista en alzado superior y lateral del cartucho para su uso de acuerdo con la invención; y [B]una ilustración esquemática de una vista en alzado lateral del lector para su uso de acuerdo con la invención;

**Figura 2.** Muestra una ilustración esquemática de una vista en alzado lateral de un cartucho para su uso de acuerdo con la invención que demuestra las etapas que ilustran cómo se trabaja la invención;

**Figura 3.** [A-D]muestran un cartucho de la invención usado en un inmunoensayo. Específicamente, [A]muestra un anticuerpo que reconoce el analito que se agrega a la cámara de reacción; [B]muestra un intervalo de incubación, [C]muestra la eliminación del fluido de reacción mediante el uso de material absorbente; [D]muestra una etapa de lavado; y [E]muestra etapas que ilustran cómo se trabaja la invención;

**Figura 4.** [A-D]muestran un cartucho de la invención que es usado en un inmunoensayo quimioluminiscente después de la adición de una muestra a la cámara de reacción (Figura 3). Específicamente, [A]muestra un lavado repetido; [B]muestra la adición de un reactivo de detección a la cámara de reacción; [C]muestra la adición de un segundo reactivo de detección a la cámara de reacción; [D]muestra la emitancia de una señal de reacción; y [E]muestra etapas que ilustran cómo se trabaja la invención; y

La Figura 5 muestra la lectura del dispositivo de la invención cuando es usado para medir la proinsulina.

**Tabla 1.** Ensayo rápido mediante el uso del dispositivo descrito para la medición de cTnI en plasma humano basado en el uso de un anticuerpo marcado quimioluminiscente y un anticuerpo biotinilado que se capturó en pocillos de reacción recubiertos con estreptavidina. Las diluciones en serie de cTnI en plasma humano produjeron una respuesta paralela a los estándares de troponina en el intervalo de concentración de 6-390 pg/ml. Estos resultados fueron comparables a los procedimientos cuando se usa el lavado de reactivo convencional e indican que este ensayo rápido podría aplicarse a la medición de niveles bajos de cTnI en muestras humanas.

**Tabla 2.** Resultados de las Muestras de Prueba al medir la Proinsulina Intacta mediante el uso del Cartucho de Prueba.

**Tabla 3.** Comparación del lavado de cartuchos con el lavado de pozos convencional (luminiscencia-RLU residual).

Con referencia ahora a las figuras y, en primer lugar, a la Figura 1, parte A, se muestra una vista lateral de un cartucho que comprende los compartimientos 1, 2 y 3. Los compartimientos 1 y 3 se colocan a ambos lados del 2 y se conectan a él a través de las aberturas 6 y 7. En la modalidad mostrada, cada compartimiento tiene una función diferente. 1 aloja un carrete 4 en el que se enrolla un trozo de material absorbente 5. La rotación del carrete 4 en una primera dirección (en el sentido de las manecillas del reloj) hace avanzar el material 5 hacia el compartimiento 2 y, a través de la abertura 6, el material 5 puede entrar en 2. Por el contrario, la rotación del carrete 4 en una segunda dirección (en sentido antihorario) retrae el material 5 del compartimiento 2.

El compartimiento 2 comprende una cámara de reacción 8 en forma de pocillo o similar. La cámara 8 tiene unido a su superficie inferior interior 9 un reactivo de captura (no mostrado). Este reactivo se une a la cámara 8 directamente, mediante el uso de fuerzas de atracción químicas u otras, alternativamente (y más típicamente) este reactivo se une indirectamente a la cámara 8 usando un intermediario en forma de una sustancia de anclaje que, a su vez, está unido a la cámara 8 directamente, mediante el uso de fuerzas de atracción químicas u otras. En uso, el cartucho se suministra con el reactivo de captura ya acoplado a la cámara 8 o en un receptáculo para uso posterior.

El compartimiento 3 comprende un receptáculo 11 que aloja un reactivo 12. El receptáculo 11 está en comunicación de fluidos con la cámara 8 a través del conducto 13 y la abertura 7. La naturaleza del reactivo alojado en el receptáculo 11 se determina teniendo en cuenta la naturaleza del analito que se va a analizar y/o la naturaleza del sistema de detección que se va a usar. Aunque no se muestra, el receptáculo 11 comprende además un dispositivo de bomba de manera que el reactivo contenido en el mismo puede moverse selectivamente a la cámara 8.

La invención descrita hasta ahora representa la versión más simple del cartucho. En otras modalidades, dicho cartucho se proporciona con receptáculos adicionales 11a, 11b, 11c, etc. para alojar una pluralidad de reactivos diferentes, todos para usar en el ensayo de la invención. Adicionalmente, o alternativamente, dicho cartucho se proporciona con cámaras de reacción adicionales 8a, 8b, 8c, etc. para realizar varios ensayos simultánea o sucesivamente. Cualquiera que sea la complejidad del cartucho, está configurado de modo que al menos un suministro de material absorbente hace contacto removible con una cámara de reacción 8, y al menos un receptáculo 11 que aloja al menos un reactivo está en comunicación de fluidos con dicha cámara de reacción 8.

La parte B de la Figura 1 muestra un lector 14 adaptado para alojar el cartucho mencionado anteriormente. En esta ilustración en particular, el lector 14 se proporciona de una cavidad de tamaño y forma adecuados para acomodar el cartucho, además, el lector 14 también está provisto de dispositivos cooperativos que interactúan con el cartucho para asegurar que los reactivos y el material 5 se muevan a la cámara 8 de manera sincronizada y oportuna. Específicamente, en ciertas modalidades, dicho lector 14 puede estar provisto de un motor 15 para hacer girar el carrete 4, aunque pueden utilizarse igualmente disposiciones alternativas. Además, el lector puede comprender opcionalmente un actuador 16 para iniciar el flujo de reactivo 12 desde el receptáculo 11. Además, puede incluirse un detector 17, tal como un detector óptico, para detectar lecturas de la cámara de reacción 8 para la detección y/o cuantificación de analitos. Pueden usarse detectores 17 alternativos y la elección estará determinada por la naturaleza del marcador y los agentes de captura utilizados.

Como se muestra en la Figura 2, en uso, la muestra biológica 18 se agrega a la cámara 8 que luego se coloca dentro del lector 14. Luego se activa el lector 14 y controla la adición de reactivos a la cámara 8 y, finalmente, toma una lectura de cualquier analito detectado en la muestra 18.

La Figura 3 ilustra el uso del cartucho en un inmunoensayo. La cámara 8 se proporciona con un reactivo de captura. Después de que se ha agregado una muestra a la cámara 8, el anticuerpo marcado con detector AE que reconoce el analito se agrega a la cámara 8 (Figura 3A) y se incuba durante un período de tiempo predeterminado (Figura 3B), después de lo cual, el material 5 se sumerge en la cámara 8 para eliminar el fluido de reacción (Figura 3C). Opcionalmente, la eliminación del fluido es seguida por al menos una etapa de lavado (Figura 3D) y una etapa adicional de inmersión/eliminación a medida que se suministra la solución de lavado a la cámara 8 desde un receptáculo 11 adicional y el material 5 se vuelve a sumergir en la cámara 8 (repetir la Figura 3C). Estas etapas se muestran en la Figura 3e.

La Figura 4 muestra que la etapa de lavado se repite (Figura 4A), en esta modalidad, 3 veces (la existencia y el número de etapas de lavado se determinarán teniendo en cuenta la naturaleza del ensayo y la afinidad relativa de los reactivos por el analito). Una vez finalizado el lavado, es decir, cuando puede estarse seguro de que se han eliminado los reactivos no usados, se añade al menos un reactivo de detección a la cámara 8, en este ejemplo se añade un primero (Figura 4B) y luego un segundo reactivo de detección (Figura 4C) a la cámara 8. Estos reactivos desencadenan la emisión de una señal (Figura 4D) que es leída por el lector 14 y es indicativa de la cantidad de analito capturado por dicho reactivo de captura y así presente en dicha muestra biológica.

Si se prefiere, dicho lector puede calibrarse antes de usar mediante el uso de cantidades conocidas del analito a detectar.

Una modalidad ilustrada de la invención se describirá ahora en términos generales para ilustrar el funcionamiento de la invención.

Típicamente, el cartucho se suministra con una capa de sustancia de anclaje recubierta en la parte inferior de la cámara 8. Ventajosamente, esta sustancia es de tipo general como una avidina, lectina o un oligonucleótido. Otros receptáculos 11a, 11b, 11c, etc. se cargan o contienen reactivos adecuados teniendo en cuenta la naturaleza del analito a detectar y/o la naturaleza de la reacción del ensayo. Sin embargo, al menos uno de los receptáculos contiene reactivo de captura que une tanto la sustancia de anclaje como el analito a detectar. Al menos otro receptáculo contiene reactivo de detección que también se une al analito pero emite una señal cuando se activa o funciona junto con al menos otro reactivo en otro receptáculo para emitir una señal cuando se activa. Además, el material 5 se suministra típicamente en forma retraída. Idealmente también, un receptáculo comprende una solución de lavado.

En uso, la muestra biológica 18 se agrega a la cámara 8 y el cartucho se inserta en el lector 14. El lector 14 controla entonces el orden y el tiempo de la adición de uno o más reactivos desde uno o más receptáculos 11 a la cámara 8. Cuando finaliza una reacción deseada, se añade solución de lavado, si se desea, a la cámara 8 y el lector 14 controla entonces la inmersión del material 5 en la cámara 8 para retirar el fluido de reacción no utilizado/en exceso. Los expertos en la técnica apreciarán que la unión del reactivo de captura (directa o indirectamente) a la cámara 8 da como

resultado que el analito se retenga en la cámara 8 después del uso del material 5. En consecuencia, puede agregarse al menos un reactivo detector a la cámara 8 y pueden suministrarse las condiciones (mediante el uso de otros reactivos o un disparador adecuado) para iniciar la emisión de una señal indicativa de la naturaleza y/o cantidad de analito capturado en el reactivo de captura.

5

Las modalidades ilustradas de la invención se describirán ahora en términos más específicos para ilustrar el funcionamiento de la invención.

#### Ejemplo 1 Detección de troponina cardíaca como marcador de infarto de miocardio.

10

##### Materiales y métodos

##### Medición de troponina I mediante el uso del cartucho de prueba

15

Los anticuerpos monoclonales contra la troponina I cardíaca (cTnI) se obtuvieron de Hytest (Turku, Finlandia). Los anticuerpos se marcaron con trifluorometanosulfonato de 2,6-dimetil-4-(*N*-succinimidiloxycarbonil)fenil 10-metil-acridinio-9-carboxilato. (AE). Típicamente, los anticuerpos se hicieron reaccionar en solución acuosa con AE durante 15 minutos y el producto se purificó mediante filtración en gel. Los anticuerpos marcados con AE se almacenaron en un tampón que contenía albúmina de suero bovino y azida de sodio.

20

Los anticuerpos biotinilados se prepararon haciendo reaccionar anticuerpos en solución acuosa con biotina-LC-LC-*N*-hidroxisuccinimida (Life Technologies, Renfrew, Reino Unido) durante 18 horas y el producto se purificó por filtración en gel. Los anticuerpos biotinilados se almacenaron en tampón que contenía albúmina de suero bovino y azida de sodio.

25

Las cámaras de reacción de poliestireno se revistieron con estreptavidina (Sigma-Aldrich, Poole, Reino Unido) a una concentración de 5 µg/ml en un tampón de carbonato/bicarbonato diluido. Los pocillos se revistieron durante la noche a una temperatura de 4 °C. Las cámaras de reacción se lavaron (3 x 300 µl) con solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía el detergente tween-20 (0,1 %) y luego se bloquearon con PBS que contenía albúmina de suero bovino (1 %) durante un período de 2 h a temperatura ambiente. Después de decantar el fluido, las placas se secaron durante la noche a presión reducida. Las placas recubiertas con estreptavidina se almacenaron selladas en bolsas de papel de aluminio a una temperatura de 2-8 °C.

30

Se preparó una serie de concentraciones estándar de cTnI mediante la adición de troponina cardíaca recombinante (Abcam, Cambridge, Reino Unido) al suero de caballo (Sigma Aldrich, Poole, Reino Unido). Se liofilizaron alícuotas de 1 ml en viales de vidrio que se taparon al vacío. Los patrones liofilizados se almacenaron a 2-8 °C.

35

Para los propósitos del ensayo, se ensamblaron cámaras de reacción individuales recubiertas con estreptavidina en cartuchos de prueba fabricados. Se introdujeron la muestra (50 µl) y una mezcla de anticuerpos biotinilados y marcados con AE (50 µl) en la cámara de reacción y se dejó que la reacción prosiguiera durante 10 minutos. Después, la mezcla de reacción se retiró del pocillo bajando brevemente la mecha. Se añadió tampón de lavado (100 µl) desde el puerto apropiado y luego se eliminó mediante mecha. Este lavado se repitió dos veces más y la reacción luminiscente se inició mediante la inyección de peróxido de hidrógeno (0,5 %) en ácido nítrico (0,1 M) seguido de la inyección de hidróxido de sodio 0,25 M. Se midió la emisión de luz total integrada durante un período de tiempo de 1 segundo mediante el uso de un tubo fotomultiplicador. Los resultados se muestran en la Tabla 1. Como se muestra, las diluciones en serie de cTnI en plasma humano produjeron una respuesta paralela a los estándares de troponina en el intervalo de concentración de 6-390 pg/ml. Estos resultados indican que este ensayo rápido podría aplicarse a la medición de niveles bajos de cTnI en muestras humanas con una interferencia de fondo mínima o nula.

40

45

**Tabla 1.**

50

Concentración relativa en plasma (%)	Media RLU	cTnI medido (pg/ml)
100	4985	390,1
50	2830	187,8
25	1780	86,1
12,5	1240	42,6
6,25	930	21,6
3,12	810	13,5
1,56	700	6,1

60

65

Ejemplo 2 Medición de proinsulina intacta mediante el uso del cartucho de prueba

Una serie de concentraciones estándar de proinsulina humana (1<sup>st</sup> International Reference Preparation 84/611, NIBSC, Potters Bar, EN6 3QG, Reino Unido) se prepararon en suero de caballo. Para los propósitos del ensayo, se ensamblaron cámaras de reacción individuales recubiertas con estreptavidina en cartuchos de prueba fabricados, se introdujeron muestras (25 µl) y una mezcla de anticuerpos biotinilados y marcados con AE (100 µl) en la cámara de reacción y se dejó que la reacción prosiguiera durante 10 minutos. A continuación, se retiró la mezcla de reacción y se llevó a cabo un lavado como se describe en el ejemplo anterior. La reacción luminiscente se inició como se describió anteriormente y la medición se llevó a cabo durante un período de 1 segundo. Los resultados se muestran en la Figura 5 y los resultados de 7 muestras de prueba se muestran en la Tabla 2. Los resultados se comparan con los obtenidos en un inmunoensayo en microplaca de proinsulina intacta convencional (3 h) (ELISA).

Tabla 2.

Muestra No	POCT	ELISA
1	2,3	2,0
2	16,2	16,2
3	3,9	3,8
4	16,8	16,8
5	8,4	9,6
6	1,5	1,6
7	12,8	16,4

Ejemplo 3 Comparación de pocillos lavados en los cartuchos de la invención con pocillos lavados con un lavador de placas de laboratorio

Los cartuchos se ensamblaron con pocillos recubiertos con estreptavidina y se añadió a cada uno una mezcla de anticuerpos proinsulina biotinilados y marcados con AE (100 µl). El anticuerpo marcado añadido a cada pocillo dio una lectura de luminiscencia de 3 416 600 RLU en un luminómetro de microplaca de laboratorio. Después de 15 minutos, se lavaron los pocillos por medio del mecanismo de mecha de cartucho (3 x 150 µl de tampón de lavado). Luego se retiraron los pocillos y se midió la producción de luz en un luminómetro de laboratorio. Los resultados se compararon con pocillos a los que se les había añadido la misma mezcla de anticuerpos, pero que luego se lavaron en un lavador de placas de laboratorio. Como se muestra en la Tabla 3, la actividad residual fue esencialmente la misma (específicamente, el 0,02 % de la actividad luminiscente añadida).

Tabla 3. Comparación del lavado de cartuchos con el lavado de pozos convencional (luminiscencia-RLU residual).

Lavado de cartucho	Lavador de laboratorio (duplicados)	
790	730	770
720	710	690
680	690	720
750	730	580
930	680	700
730	620	700
840	710	750
870	690	660
<b>Media = 789</b>	<b>Media = 696</b>	

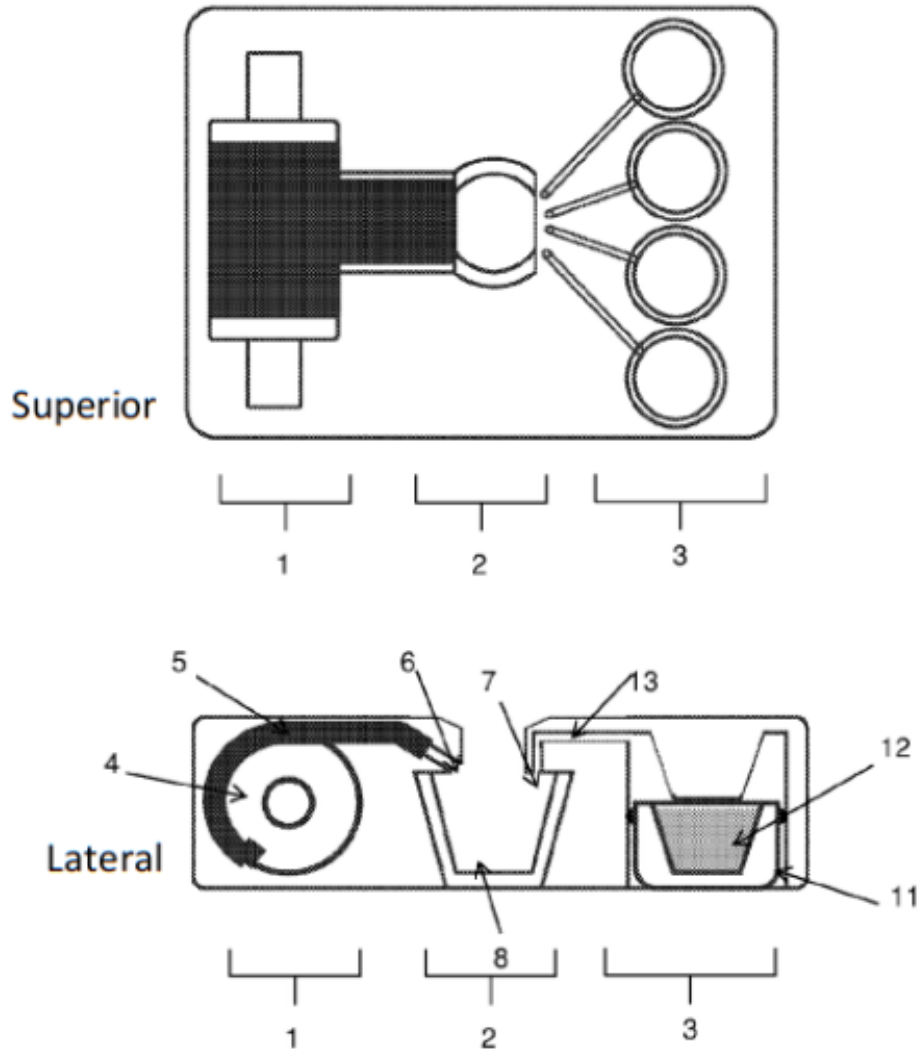
## REIVINDICACIONES

1. Un cartucho para realizar análisis de muestras que comprende una pluralidad de compartimientos en donde
  - 5 un primer compartimiento (2) que comprende al menos una cámara de reacción (8) para contener la muestra y que tiene unido al menos una parte de su superficie a un reactivo de captura;
  - un segundo compartimiento (3) que comprende al menos un receptáculo (11) para alojar al menos un reactivo en donde dicho reactivo está en comunicación de fluidos con dicho primer compartimiento; y
  - 10 un tercer compartimiento (1), integral con dicho primer o segundo compartimiento o separado del mismo, que comprende un dispositivo de extracción en comunicación de fluidos y/u operativo con dicha cámara de reacción para retirar reactivo y/o productos sin reaccionar de dicha cámara de reacción (8) **caracterizado porque** dicho dispositivo de extracción (4, 5) comprende material transpirable o absorbente (5) montado en un miembro móvil (4) y es móvil con respecto a dicho miembro de modo que dicho material pueda avanzar y/o retraerse en dicha cámara de reacción.
  - 15
  2. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho material absorbente está montado en un carrete (4) cuyo movimiento circular, en una primera dirección, hace avanzar dicho material y cuyo movimiento circular, en una dirección opuesta, retrae dicho material.
  - 20
  3. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho material absorbente (5) está montado sobre un transportador cuyo movimiento, en una primera dirección, hace avanzar dicho material y cuyo movimiento, en una dirección opuesta, retrae dicho material.
  - 25
  4. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde dicho miembro móvil está dispuesto de manera que dicho material, cuando avanza, se sumerge en la cámara de reacción (8) y, cuando se retrae, se retira de dicha cámara de reacción.
  5. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde dicho miembro móvil está asociado con una cuchilla que corta dicho material absorbente.
  - 30
  6. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha muestra es una muestra biológica.
  - 35
  7. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicho reactivo de captura es una sustancia o reactivo que puede unirse, de forma reversible o irreversible, a un analito diana en dicha muestra biológica.
  - 40
  8. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 7, en donde dicho reactivo de captura se selecciona del grupo que comprende: anticuerpos, aptámeros y fragmentos de los mismos, oligonucleótidos u otros ligandos o receptores específicos para dicho analito.
  - 45
  9. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho reactivo de captura está unido directamente sobre al menos una parte de una superficie de la cámara de reacción.
  - 50
  10. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde dicho reactivo de captura se une indirectamente sobre al menos una parte de una superficie de la cámara de reacción mediante el uso de una sustancia de anclaje que se une al reactivo de captura.
  - 55
  11. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 10, en donde dicha sustancia de anclaje se selecciona del grupo que comprende: lectinas, avidinas, oligonucleótidos, polinucleótidos, proteínas y lectinas.
  - 60
  12. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha sustancia de anclaje es una avidina y dicho reactivo de captura comprende una pareja de unión a biotina o viceversa.
  - 65
  13. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 12, en donde dicha sustancia de anclaje es estreptavidina y dicho reactivo de captura comprende una pareja de unión a biotina o viceversa.
  14. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicha cámara de reacción tiene forma de un pozo que comprende una base en donde dicha base está recubierta con el reactivo de captura y/o sustancia de anclaje.
  15. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho primer compartimiento (2) comprende una pluralidad de cámaras de reacción (8a-8n).
  16. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho primer compartimiento (2) comprende una cámara de reacción (8) en forma de pozo a la base del cual se unen una pluralidad de reactivos de captura, cada uno específico para un analito diana diferente en dicha muestra.

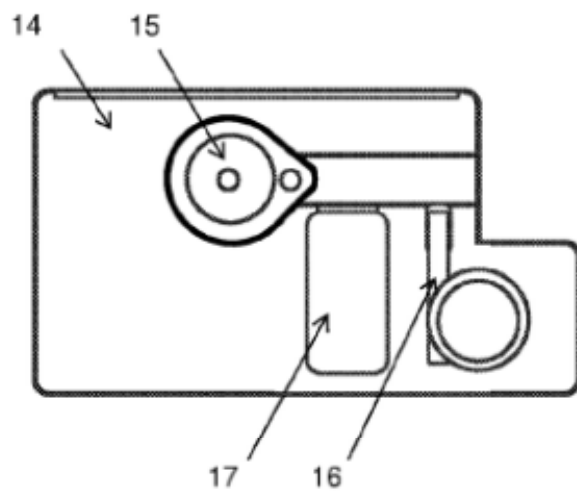
17. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde el reactivo de captura y/o la sustancia de anclaje están acoplados a partículas paramagnéticas.
- 5 18. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho segundo compartimiento (3) comprende una pluralidad de receptáculos (11a-11n) para alojar varios reactivos diferentes en donde cada receptáculo está en comunicación de fluidos con la cámara de reacción.
- 10 19. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-18, en donde dicho cartucho comprende varios compartimientos adicionales en los que al menos uno incluye al menos un receptáculo para alojar un reactivo en donde dicho reactivo está en comunicación de fluidos con dicha cámara de reacción.
- 15 20. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho reactivo (12) del segundo compartimiento se selecciona del grupo que comprende: un reactivo de lavado, un reactivo marcador o marcado, un reactivo de detección o un reactivo de captura.
- 20 21. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 20, en donde dicho reactivo marcador o marcado se selecciona del grupo que comprende: una enzima, un cromóforo o un luminóforo (por ejemplo, un marcador fluorescente, fosforescente, bioluminiscente o quimioluminiscente); un modulador de emisiones de una molécula o ión fluorescente, fosforescente, quimioluminiscente o bioluminiscente; un cofactor para una reacción quimioluminiscente o bioluminiscente; una partícula coloreada, una partícula magnética, un sistema ELISA, un sistema indicador pigmentado, anticuerpos, aptámeros y fragmentos de los mismos, y una molécula de éster de acridinio (AE).
- 25 22. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 20 ó 21, en donde dicho reactivo de detección es peróxido de hidrógeno en ácido o una solución alcalina.
- 30 23. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 18, o las reivindicaciones 19-22 cuando dependen de la reivindicación 18, en donde al menos uno de dichos receptáculos aloja reactivo de lavado, al menos uno de dichos receptáculos aloja reactivo de detección, y al menos uno de dichos receptáculos aloja un reactivo marcador o marcado o reactivo de captura.
- 35 24. El cartucho de acuerdo con las reivindicaciones 18, o las reivindicaciones 19-22 cuando dependen de la reivindicación 18, en donde al menos uno de dichos receptáculos aloja reactivo de lavado, al menos uno de dichos receptáculos aloja un primer reactivo de detección, al menos uno de dichos receptáculos aloja un segundo reactivo de detección, al menos uno de dichos receptáculos aloja un reactivo de captura, y al menos uno de dichos receptáculos aloja un reactivo marcador o marcado.
- 40 25. El cartucho de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el primer reactivo de detección es peróxido de hidrógeno en ácido, el segundo reactivo de detección es una solución alcalina, el reactivo de captura es un anticuerpo biotinilado y el reactivo marcador es un anticuerpo marcado con AE.
- 45 26. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho receptáculo incluye al menos una bomba para bombear dicho reactivo a dicha cámara de reacción.
- 50 27. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho receptáculo incluye una válvula para controlar el flujo de reactivo en dicha cámara de reacción.
- 55 28. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde cada reactivo está alojado en una bolsa sellada contenida dentro del receptáculo, dicha bolsa está muy cerca de un conducto que conduce a la cámara de reacción por lo que la aplicación de presión a la bolsa por un activador hace que dicha bolsa libere su contenido en el conducto y entregarlo a dicha cámara de reacción.
- 60 29. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho cartucho comprende además un dispositivo de control (16) que sincroniza el flujo de reactivos a la cámara de reacción y el uso de dicho material absorbente.
- 65 30. El cartucho de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde dicho cartucho comprende además un miembro de agitación mediante el cual se mezclan componentes en dicha(s) cámara(s) de reacción.
31. Un dispositivo de ensayo en el punto de atención que comprende el cartucho de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-30 y un lector (14) adaptado para permitir que el cartucho se coloque en comunicación funcional con dicho lector.
32. El dispositivo de ensayo en el punto de atención de acuerdo con la reivindicación 30, en donde dicho lector comprende un medio de acoplamiento o alineación para permitir que el cartucho se inserte, coloque o fije al lector.

- 5
33. El dispositivo de ensayo en el punto de atención de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 31 o 32, en donde dicho lector comprende un detector (17) para detectar el reactivo de captura y/o el reactivo marcador o marcado.
- 10
34. El dispositivo de ensayo en el punto de atención de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 31-33, en donde dicho lector (14) comprende un motor (15) que se configura para acoplar el miembro móvil (4) de dicho cartucho cuando el cartucho se inserta en el lector y proporcionar de esta manera el avance y la retracción de dicho material absorbente (5).
- 15
35. El ensayo en el punto de atención de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 31-34, en donde dicho lector (14) comprende un dispositivo de control (16) que sincroniza el flujo de dichos reactivos a la cámara de reacción y el uso de dicho material absorbente y/o dicho motor.
- 20
36. El dispositivo de ensayo en el punto de atención de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 31-35, en donde dicho lector comprende un dispositivo que provoca la agitación de la cámara de reacción o su contenido tras la introducción de reactivos y/o soluciones de lavado.
- 25
37. Un kit de piezas para un dispositivo de ensayo en el punto de atención (POCT) que comprende:  
al menos un cartucho de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-30; y  
al menos un lector (14) adaptado para comunicarse funcionalmente con dicho cartucho de manera que los reactivos de ensayo en dicho cartucho pueden usarse para proporcionar un POCT para identificar al menos un analito en una muestra biológica.

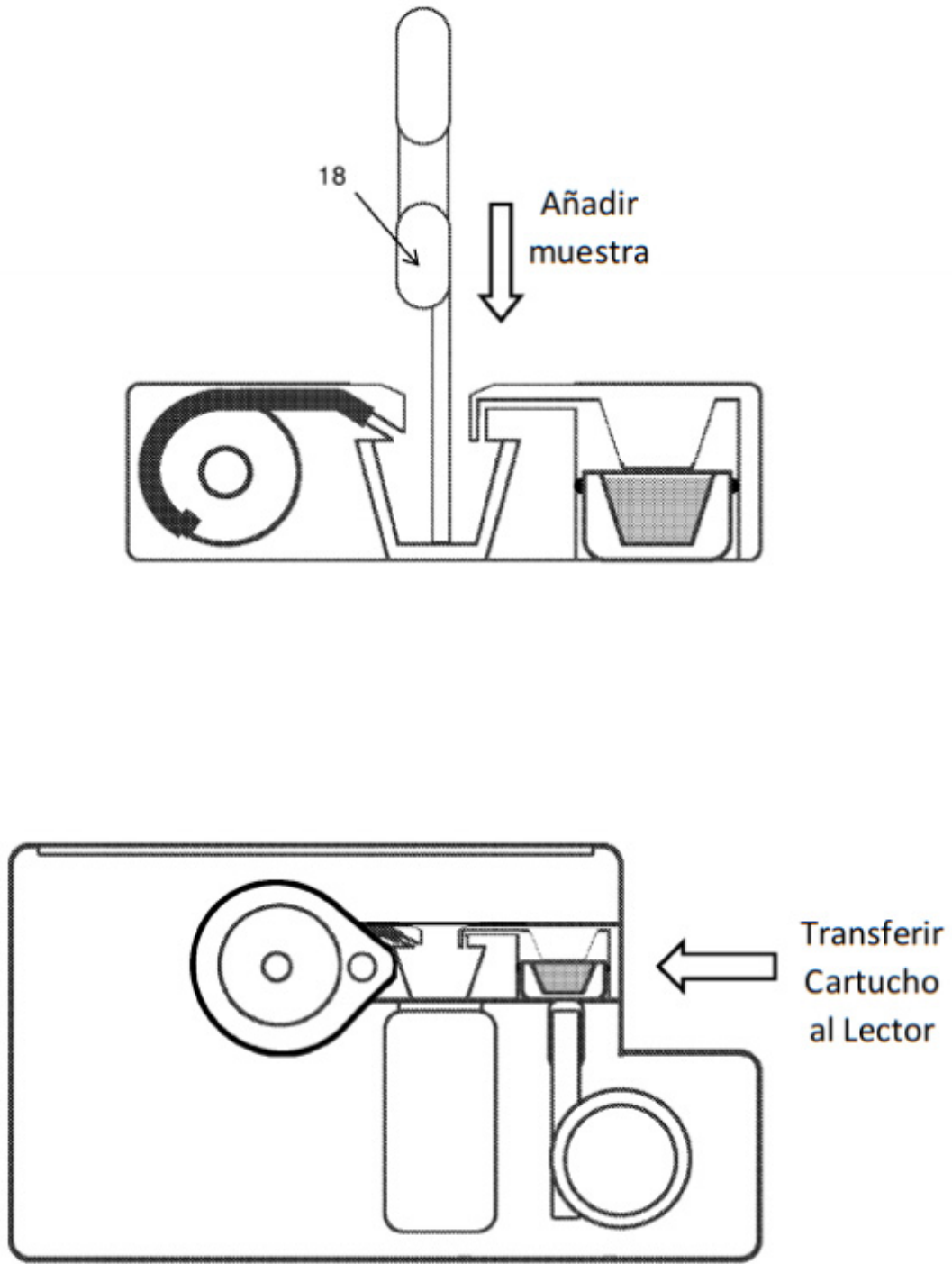
A.



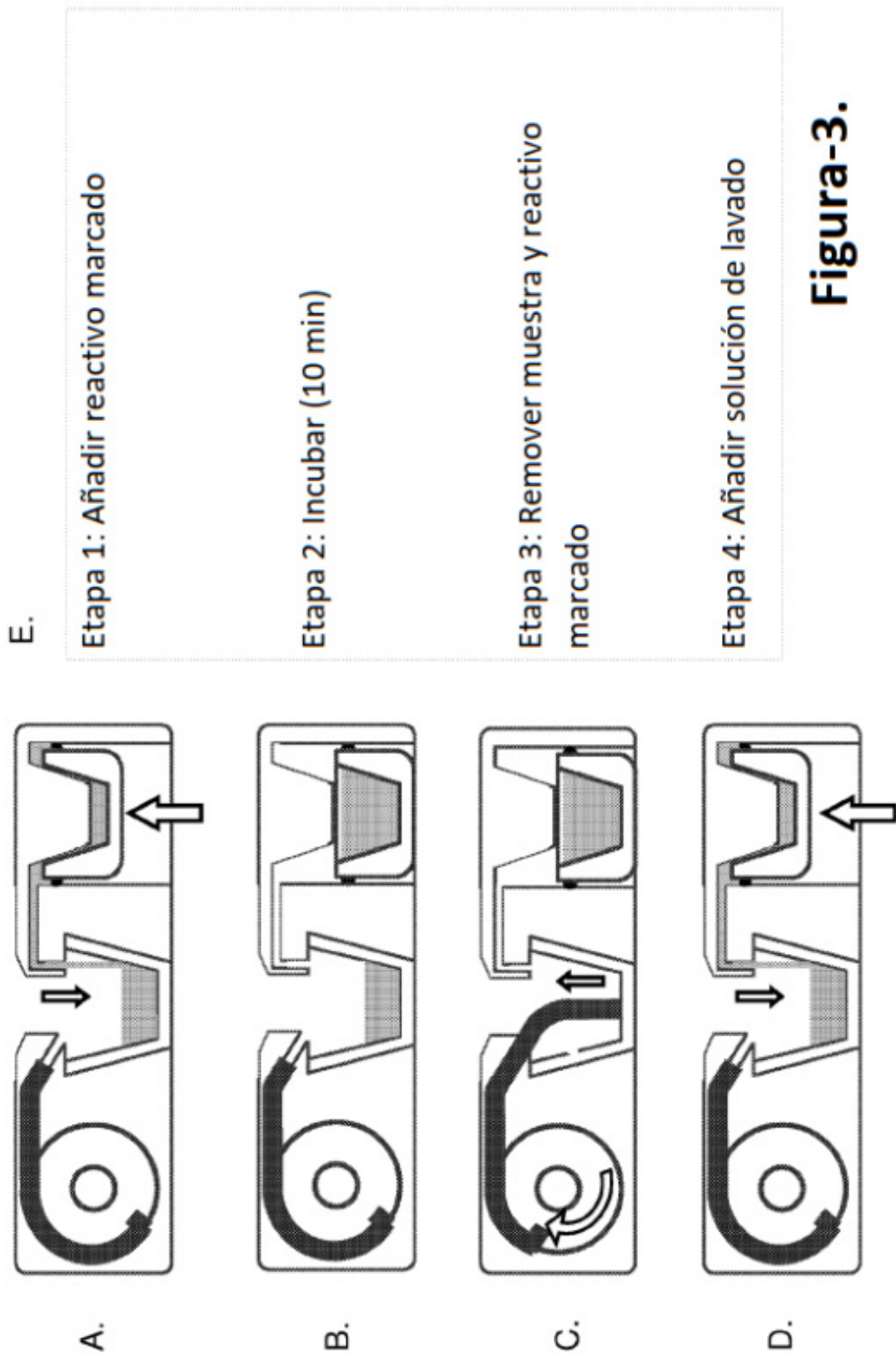
B.

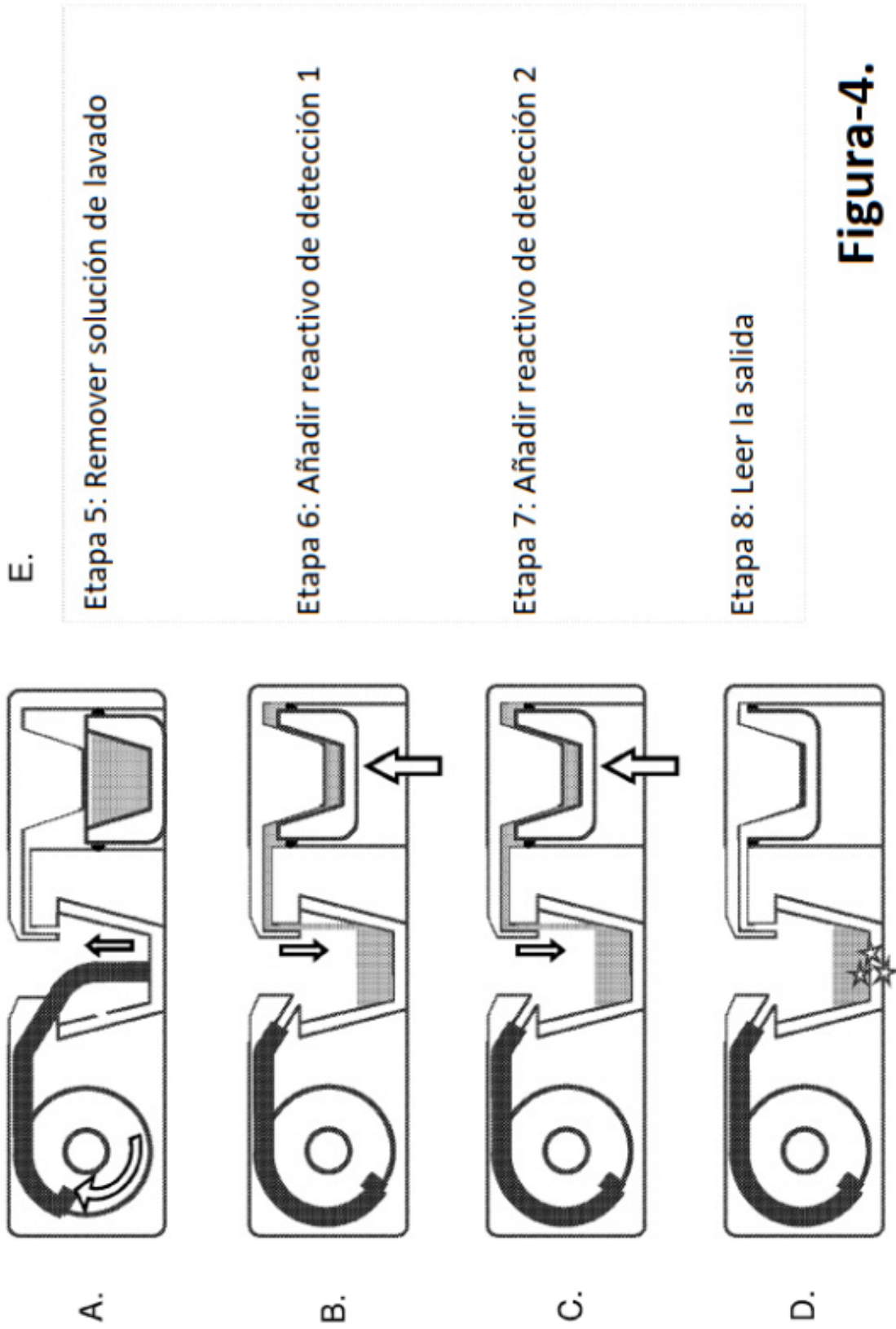


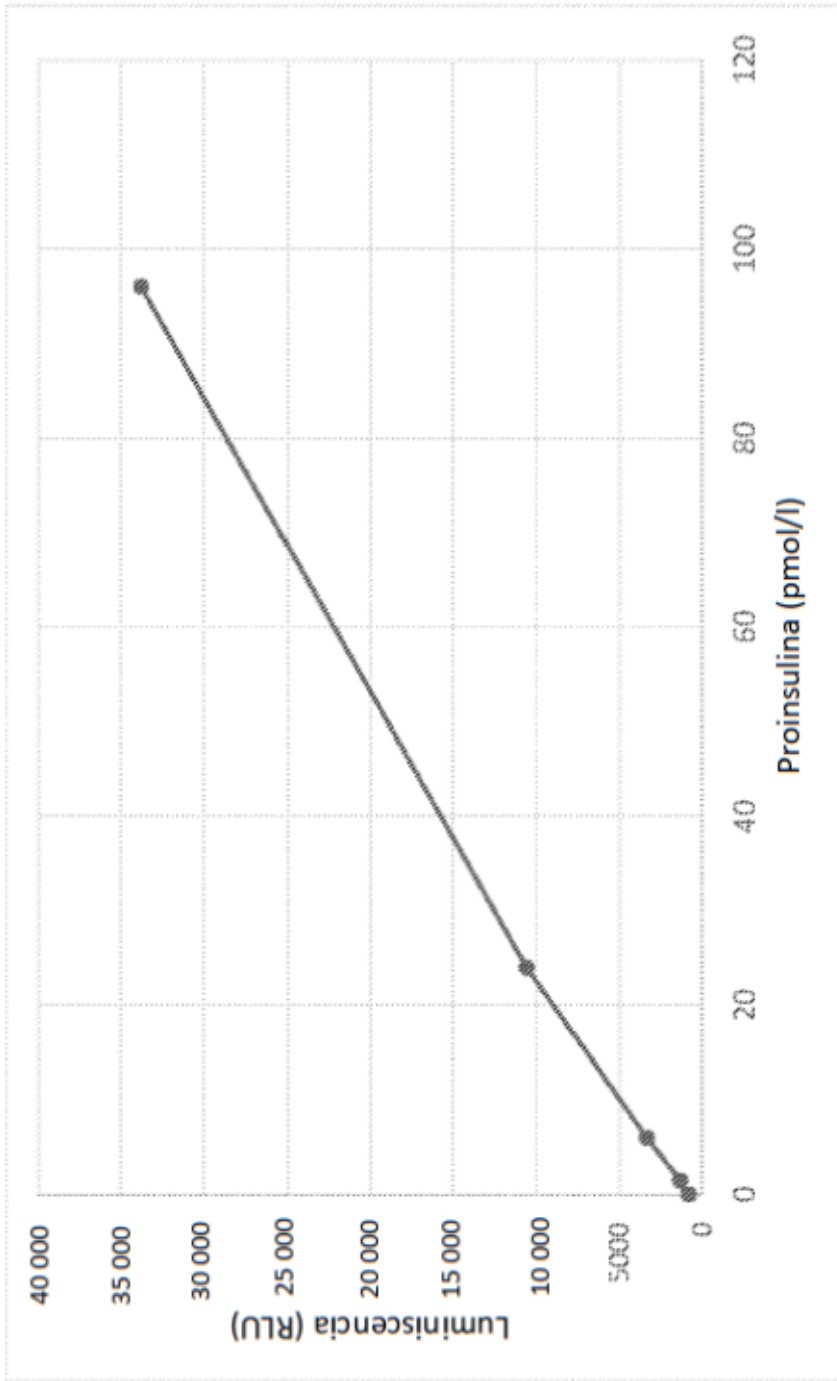
**Figura-1.**



**Figura-2.**







**Figura-5.**