



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 332 308**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/52** (2006.01)

**G01N 33/487** (2006.01)

**G01N 21/78** (2006.01)

**G01N 21/86** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03396097 .2**

96 Fecha de presentación : **22.10.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1416275**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.05.2004**

54 Título: **Dispositivo de control para una prueba rápida.**

30 Prioridad: **31.10.2002 FI 20021935**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**02.02.2010**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**02.02.2010**

73 Titular/es: **Oy Reagena Ltd.**  
**Takojantie 18**  
**70900 Toivala, FI**

72 Inventor/es: **Kuronen, Ilpo**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 332 308 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Dispositivo de control para una prueba rápida.

5 La invención se refiere a un dispositivo de control para facilitar la interpretación de los resultados obtenidos con una prueba rápida de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1.

10 La popularidad de diferentes pruebas rápidas como dispositivos analíticos se basa en sus procedimientos agradables para el usuario que los hacen fácilmente aplicables a usos profesionales y no profesionales. Las pruebas rápidas en uso profesional están dirigidas generalmente a análisis de muestras de sangre, mientras que las pruebas hechas a partir de muestras de orina o de saliva pueden utilizarse también en las denominadas condiciones de campo por usuarios no profesionales. Una prueba rápida comúnmente utilizada para uso doméstico es la prueba de embarazo, que puede comprarse en comercios de venta al por menor, entre otras cosas. Otras pruebas rápidas ampliamente utilizadas son pruebas de drogas y pruebas empleadas para diagnosticar enfermedades infecciosas.

15 La función de las pruebas rápidas se basa en las tecnologías descritas, por ejemplo, en la publicación de patente WO 92/01226 en cuyo método la sustancia a medir o a analizar es fijada a una membrana por anticuerpos o antígenos y desde donde puede detectarse utilizando suspensión de partículas, reacción de enzimas o fluorescencia. Estas técnicas pueden dividirse aproximadamente en dos tipos sobre la base de su función: pruebas de flujo lateral y pruebas de flujo continuo. En ambas aplicaciones, pueden utilizarse partículas coloreadas, enzimas o fluorocromos para la formación de señales. Además, en ambas aplicaciones el resultado emerge en una membrana que está hecha usualmente de nitrocelulosa, pero que puede hacerse también de otro material, por ejemplo polivinildifluoruro (PVDF), nilón, celulosa, fibra de vidrio o sus mezclas.

25 Un problema general relacionado con las pruebas rápidas es distinguir la diferencia entre la señal de prueba positiva y negativa debido a que la interpretación de la prueba se basa en la emergencia de una figura que puede detectarse visualmente. En las instrucciones de usuario de muchas pruebas rápidas se advierte generalmente que si, como resultado de la prueba, aparece una figura claramente visible, por ejemplo una línea, la prueba es positiva. Si la figura no es visible, la prueba es negativa. Así, la interpretación de los resultados depende de la estimación del usuario sobre la intensidad de la figura. Muchas pruebas rápidas forman una figura visualmente detectable, incluso aunque la muestra analizada en la prueba fuera en realidad negativa en sentido analítico o clínico. Este problema se enfatiza en situaciones en las que se requiere de la prueba una sensibilidad analítica máxima o si la prueba está destinada a detectar afinidades débiles entre las sustancias de fijación. Por ejemplo, las pruebas fabricadas para diagnóstico de enfermedades contagiosas agudas deberán ser capaces de detectar anticuerpos de fase aguda a partir de excretas corporales. Estos anticuerpos tienen usualmente una débil afinidad y, así, son difíciles de detectar en pruebas rápidas. En estos casos, la realización de la prueba tiene que sintonizarse con tanta sensibilidad como sea posible, de modo que aumente también el número de resultados negativos interpretados como resultados positivos debido a que, como resultado de la prueba, se forma una línea fantasma apenas visible que puede interpretarse falsamente como resultado positivo.

40 La fiabilidad de las pruebas rápidas puede incrementarse utilizando muestras de control reales que son conocidas por dar un resultado positivo o negativo. Sin embargo, esta clase de muestras de control requiere siempre un análisis y pueden ser difíciles de realizar por el usuario que haga el análisis debido, por ejemplo, a que el uso de muestras derivadas de la sangre requiere que se sigan estrictas regulaciones de seguridad.

45 Con el fin de mejorar la calidad de las pruebas rápidas, se han realizado una serie de innovaciones dirigidas a controlar la función de las pruebas rápidas. Las publicaciones de patente WO9822824, WO9731268, US4920046 y US6057165 describen métodos de control que se dirigen a informar al usuario de que la prueba ha funcionado adecuadamente. En la solicitud de patente US 2002/0055126 se ha descrito un dispositivo de prueba que tiene una línea de control con cuya ayuda se controla el funcionamiento de los reactivos. En el documento WO 00/31538 se ha presentado una tira de ensayo con zonas de control para reactivos en partículas utilizados en la prueba y que controlan el funcionamiento de la prueba. En la patente WO 96/37820 se ha mostrado un dispositivo o cartucho en el que hay medios de control para mostrar el flujo de un líquido. Sin embargo, estos métodos y dispositivos no proporcionan ninguna información sobre el problema relacionado con la distinción de resultados de prueba positivos y negativos.

60 La finalidad de esta invención es describir un dispositivo de control que elimine los problemas relacionados con los métodos y dispositivos de control actualmente conocidos. Además, la finalidad de la invención es describir un dispositivo de control que aumente la fiabilidad de los resultados obtenidos con pruebas rápidas y mejore su valor funcional. Especialmente, la finalidad de la invención es proporcionar un dispositivo de control que haga más fácil que antes la distinción de los resultados positivos y negativos.

65 La finalidad de la invención se consigue con el método y el dispositivo de control caracterizado en la parte característica de la reivindicación 1.

Según la invención, en el soporte hay una figura que se forma dispensando una suspensión de partículas coloreada sobre el soporte, correspondiendo la intensidad de la figura a la intensidad de la muestra conocida, en cuyo caso el resultado correcto se distingue comparando la intensidad de la figura formada de esta manera con el resultado obtenido

## ES 2 332 308 T3

en la prueba rápida. Las suspensiones dotadas de diferentes densidades de partículas se hacen con una suspensión coloreada o productora de color visible que se utiliza para la formación de señales en pruebas rápidas, con cuyas suspensiones se forma una figura visiblemente detectable sobre un soporte utilizado en pruebas de control. Con ayuda de la invención es posible distinguir las señales débiles dadas por las pruebas rápidas respecto de las señales positivas verdaderas y las señales de fondo. La ventaja de la invención es que, cuando el resultado de la prueba es detectable visualmente o por una óptica de lectura, como, por ejemplo, una línea coloreada o alguna otra clase de figura sobre la superficie de una membrana, éste puede compararse con la línea correspondiente de la muestra analizada previamente u otra figura que tenga la intensidad correcta. Con ayuda de la invención los resultados de las pruebas rápidas se hacen más fiables.

La intensidad de una figura separada puede ajustarse para que corresponda a la intensidad formada por las muestras positivas y/o negativas y la intensidad de la figura formada de esta manera puede compararse con el resultado obtenido de la prueba rápida, en cuyo caso el resultado negativo correcto se distingue del resultado positivo y/o el resultado positivo correcto se distingue del resultado negativo o del fondo. Naturalmente, pueden formarse al menos dos figuras sobre un soporte, de las cuales una figura es para la comparación del resultado positivo y la otra para la comparación del resultado negativo.

Con el fin de distinguir entre la señal negativa y la señal positiva, la intensidad del color/colores de la figura/figuras a formar se ajusta al dispositivo de control utilizando muestras positivas y negativas conocidas y las señales obtenidas de la prueba rápida de la muestra analizada se controlan y se distinguen con ayuda de la figura o las figuras en el dispositivo de control. La intensidad correcta de la figura/figuras a formar en el dispositivo de control se obtiene por medio de muestras reales, obteniéndose resultados precisos por comparación de los resultados de la prueba con la figura/figuras contenidas en el dispositivo de control.

Las figuras en el dispositivo de control según la invención proporcionan al usuario del dispositivo de control una información adecuada sobre la intensidad de las señales positivas y negativas en el dispositivo de prueba rápida. La invención facilita la distinción del resultado positivo respecto del resultado negativo y así los resultados de las pruebas rápidas se hacen más fiables, lo que, a su vez, incrementa el valor funcional diagnóstico de las pruebas rápidas.

La figura utilizada para distinguir la señal se forma preferiblemente sobre una membrana utilizando una suspensión de partículas coloreada. La señal puede formarse con una suspensión de partículas hecha de metales pesados, tal como oro, o de plástico, tal como látex, o de cualquier otro material/materiales aplicables, cuya suspensión de partículas consiste en partículas que tienen un tamaño preferible de partícula de  $0,005\ \mu\text{m}$ - $2\ \mu\text{m}$ . La suspensión de partículas puede estandarizarse también espectrofotométricamente midiendo la densidad óptica de las suspensiones a una longitud de onda apropiada para medir las suspensiones.

Preferiblemente, el soporte es una membrana hecha de cualquier material de color claro aplicable tal como nitrocelulosa, celulosa, polivinildifluoruro o nilón. La figura a formar puede ser cualquier figura visualmente detectable tal como una línea, una marca más o menos o alguna otra figura detectable.

La membrana que tiene la figura se monta para formar una tira de prueba que puede usarse como tal o montarse en un soporte de plástico, en cuyo caso se consigue un dispositivo de control que se parece al cartucho de análisis original. Cuando es un dispositivo independiente, éste puede utilizarse fácilmente por separado del dispositivo de prueba rápida y el mismo dispositivo de control puede usarse constantemente. El dispositivo de control que tiene una figura de una densidad deseada es seleccionado de tal manera que la forma, anchura e intensidad del color de la figura en el dispositivo de control se compare con el resultado de muestras positivas y negativas adquiridas del dispositivo analítico (prueba rápida). El dispositivo de control que tiene la figura que proporciona la información deseada es copiado utilizado informado adquirida de un espectrofotómetro sobre la densidad de la suspensión de partículas, en cuyo caso todos los dispositivos de control preparado contienen exactamente la figura correcta.

La invención se explica además con detalle haciendo referencia a las siguientes figuras, en las que

La figura 1a presenta un dispositivo de control según una realización de la invención y

La figura 1b presenta un dispositivo de control montado según la figura 1a.

Las figuras 1a y 1b presentan un dispositivo de control según una realización de la invención. El dispositivo de control 100 tiene principalmente forma de tira e incluye un bastidor 104 y un soporte 101 que está preferiblemente sujeto a dicho bastidor. En la membrana 101 que funciona como soporte, la figura 102, que se parece a la línea de control en el dispositivo analítico 102, y la figura 103 en forma de línea coloreada se han hecho visibles en las figuras. El dispositivo de control 100 puede consistir también en los elementos 105 y 106 de cartucho, entre los cuales pueden colocarse el bastidor 104 y el soporte 101. Preferiblemente, el elemento 105 de cartucho incluye una abertura 107 en donde son visiblemente detectables las figuras 102 y 103. La abertura 107 puede incluir una ventana, tal como, por ejemplo, una cinta de plástico transparente, que protege el soporte 101 contra peligros mecánicos.

## ES 2 332 308 T3

El bastidor 104, los elementos 105 y 106 de cartucho y la ventana 107 pueden prepararse a partir de, por ejemplo, plástico o cualquier otro material aplicable. La membrana 101 puede prepararse a partir de, por ejemplo nitrocelulosa, celulosa, tal como papel, polivinildifluoruro, nilón u otro material de color claro. La forma de las figuras 102 y 103 producidas sobre una membrana 101 puede ser, además de una línea, por ejemplo, una marca más o menos, o cualquier otra figura claramente detectable. La suspensión de partículas puede estandarizarse también espectrofotométricamente midiendo la densidad óptica de la suspensión a una longitud de onda apropiada para medir la suspensión. La figura puede formarse sobre una membrana 101 con un dispensador de líquido, formado para este propósito, dispensando una suspensión de partículas predefinida sobre dicha membrana. Alternativamente, puede usarse cualquier otro método para formar la figura deseada, tal como una técnica de impresión, impresoras de chorro de tinta o impresoras láser. La suspensión de partículas utilizada está preferiblemente coloreada y puede hacerse de metales pesados, tal como oro, o de plástico, tal como, por ejemplo, látex, o de cualesquiera otras partículas que tengan el tamaño de partícula de 0,005-2  $\mu\text{m}$ . El dispositivo de control presentado en la figura 1 se utiliza como dispositivo independiente y, por medio de éste, pueden observarse y controlarse fácilmente los resultados de las pruebas rápidas.

### 15 Ejemplo 1

El siguiente ejemplo describe una preparación de un dispositivo de control de acuerdo con la invención, cuyo ejemplo describe un control de nivel para definir el nivel de señal para la prueba de nefropatía epidémica y en el que se utilizan partículas de oro coloreadas para la formación de señales. El ejemplo presentado a continuación se ilustra por referencia a la tabla adjunta 1.

La prueba rápida fabricada por ERILAB OY (Kuopio, Finlandia) dirigida a la diagnosis de nefropatía epidémica aguda detecta anticuerpos de la clase IgM en muestras de sangre humana que, en pruebas rápidas, reaccionan con una proteína fabricada por ingeniería genética, que tiene su origen en el virus Puumala. Debido a que la prueba es para la detección de anticuerpos reales de la clase IgM en una fase tan temprana de la enfermedad como sea posible, la prueba es vulnerable a la formación de líneas fantasma con muestras negativas, es decir, con muestras que, en realidad, no son muestras de un paciente que padece nefropatía epidémica. La prueba utiliza partículas de oro coloreadas para la formación de señales, que se han marcado con los mencionados anticuerpos de la clase IgM. En la prueba, las partículas de oro coloreadas se fijan sobre una membrana a través de anticuerpos reales de la clase IgM y forman una línea roja. Si no hay anticuerpos reales, no deberá formarse una línea roja. Sin embargo, frecuentemente, la prueba muestra una línea débil con muestras que no son de un paciente que padezca nefropatía epidémica.

Este fenómeno puede ser debido a una variedad de razones tales como anticuerpos de reacción cruzada, agregación de la suspensión de partículas, prueba caducada, etc. Sin embargo, las muestras verdaderas de un paciente que padezca nefropatía epidémica provocan una línea roja claramente detectable y, así, llegan a interpretarse correctamente como muestras positivas. Con el fin de distinguir entre una línea roja que haya sido causada por una línea fantasma provocada por una muestra negativa y la línea originada por una muestra positiva real, se preparó como sigue la prueba de control según la invención.

Se prepararon suspensiones con diferentes densidades de partículas a partir de la suspensión roja de partículas de oro utilizada para la formación de señales diluyendo la suspensión de partículas de oro original con agua desionizada. La densidad óptica de las suspensiones puede medirse, por ejemplo, con un espectrofotómetro a 520 nm de longitud de onda con el fin de estandarizar las suspensiones. Las suspensiones estandarizadas de esta forma se inyectan en una membrana utilizada en la prueba de nefropatía epidémica en líneas estrechas cuya anchura corresponde a la anchura de las líneas de una prueba de nefropatía epidémica. Las membranas preparadas de esta manera se utilizan para formar dispositivos de control en los que la línea roja débil formada por las partículas de oro es visible en diferentes intensidades dependiendo de la densidad de partículas de la suspensión utilizada. Se relaciona después el dispositivo de control que incluye la línea de anchura correcta, de tal manera que la línea del dispositivo de control se compare con los resultados obtenidos de una muestra que proporcione la línea positiva correcta y la línea fantasma negativa. El dispositivo de control que incluye una línea que es más débil en intensidad que la línea en la muestra positiva, pero al menos tan intensa como la línea fantasma, que es creada por la muestra negativa en la prueba de nefropatía epidémica, se selecciona para uso como dispositivo de control o control de nivel.

Al analizar un grupo de muestras positivas y negativas conocidas, llegó a ser evidente que, en los resultados de la prueba, había un grupo de muestras que eran difíciles de interpretar como positivas o como negativas, puesto que la intensidad de la línea de las muestras era muy débil. Las instrucciones de usuario advierten de que si la línea es claramente visible, la prueba es positiva. Esto provocó un problema debido a que claramente visible no es la misma cosa para diferentes usuarios, y el resultado puede variar dependiendo del usuario. La interpretación de los mismos resultados con ayuda de un dispositivo de control dio un resultado considerablemente mejor, puesto que el nivel de intensidad predefinido de la línea permitió a los usuarios sacar las conclusiones correctas de la intensidad de la línea. Se realizó la comparación comparando el resultado obtenido del análisis con la línea en el dispositivo de control. Si la línea obtenida como resultado del análisis era más visible (más intensa) que la línea en el dispositivo de control, el resultado era positivo. Si la línea era más débil o tan débil como la línea en el dispositivo de control, el resultado era negativo.

La tabla adjunta presenta los resultados del análisis obtenidos con y sin el dispositivo de control. La información de la tabla se recogió a partir de la serie de analíticas rutinarias llegadas al departamento de microbiología clínica

del Hospital Universitario de Kuopio, cuyo análisis ha sido conocido previamente por provocar problemas en las pruebas rápidas. El Progen Puumala IgM EIA (Progen GmbH, Alemania) se utilizó como método de verificación de las muestras en el departamento de microbiología clínica del Hospital Universitario de Kuopio. Desde el punto de vista de la práctica, la desviación entre los resultados es muy significativa, puesto que, cuando la interpretación llegó a ser más explícita, produjo el resultado correcto en el caso de varios pacientes, lo que, a su vez, permitió la elaboración de un diagnóstico correcto.

## Ejemplo 2

A continuación, se presenta un método de preparación alternativo para un dispositivo de control de acuerdo con la invención en el que se utiliza una suspensión de látex azul como medio de formación de señales.

Muchas pruebas rápidas utilizan partículas de látex coloreadas para la formación de señales, la cual puede ser de cualquier color. El uso de partículas de látex de color azul es más común que otros colores, debido a lo cual se eligieron dichas partículas para este ejemplo. El formador de señales de la prueba de nefropatía epidémica fabricado por ERILAB OY se sustituyó por la suspensión de partículas de látex azul (Banks Laboratories, USA), que se preparó fijando el mismo anticuerpo, que se utilizó en el caso de las partículas de oro antes mencionadas, a la superficie del látex mediante la adición del anticuerpo a la suspensión de partículas. La suspensión preparada de esta manera trabaja de forma análoga a la suspensión de partículas de oro original, pero produce una línea azul en lugar de una roja.

El dispositivo de control se preparó de la misma manera que en el ejemplo previo, con la excepción de que se utilizó en este ejemplo una suspensión de látex azul. Cuando se analizaron las mismas series de muestras con las pruebas que producían una línea azul, llegó a ser evidente que, dependiendo de la función de las pruebas, el resultado era una serie de líneas de prueba débiles, cuya interpretación como negativas o positivas era difícil sin un dispositivo de control preparado de esta manera, ilustrando dichas líneas la señal dada por el soporte al usuario.

Debido a que la interpretación de cualquier prueba rápida se basa en la figura o línea detectada formada o no formada dependiendo de la muestra, los ejemplos presentados con anterioridad se aplican universalmente con independencia de la sustancia analizada, el fabricante de la prueba, la técnica o el color formado. Sin el ejemplo ilustrativo del nivel del fondo proporcionado por el dispositivo de control, la interpretación de los resultados puede ser difícil con muestras que contengan una sustancia a analizar con bajo contenido o baja intensidad de fijación.

Se han presentado anteriormente la ejecución y las realizaciones de la invención a modo de ejemplos. Es evidente para el experto en la técnica que la invención no está limitada a los detalles de las realizaciones anteriormente presentadas y que la invención puede llevarse a cabo de otra forma sin apartarse de las características de la invención.

(Tabla pasa a página siguiente)

## ES 2 332 308 T3

ID de muestra	Resultado de referencia	Resultado de prueba rápida sin dispositivo de control	Resultado de prueba rápida con dispositivo de control	Comentarios
1	Negativo	Negativo	Negativo	Sin fondo
2	Negativo	Incierto	Negativo	Fondo
3	Negativo	Positivo	Negativo	Fondo
4	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado claro
5	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado débil
6	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado claro
7	Negativo	Positivo	Negativo	Resultado débil
8	Negativo	Negativo	Negativo	Sin fondo
9	Negativo	Negativo	Negativo	Sin fondo
10	Negativo	Negativo	Negativo	Sin fondo
11	Negativo	Positivo	Negativo	Fondo
12	Negativo	Incierto	Negativo	Fondo
13	Negativo	Negativo	Positivo	Resultado débil
14	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado claro
15	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado claro
16	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado claro
17	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado claro
18	Positivo	Positivo	Negativo	Resultado débil
19	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado claro
20	Negativo	Positivo	Negativo	Fondo
21	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro
22	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro
23	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro
24	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro
25	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro
26	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro
27	Positivo	Negativo	Positivo	Resultado débil
28	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro
29	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro
30	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado claro

**REIVINDICACIONES**

5 1. Dispositivo de control para facilitar la interpretación de los resultados de pruebas rápidas, cuyo dispositivo de control incluye un cartucho (105, 106) que incluye un soporte (101) con una figura (102, 103) sobre el soporte, **caracterizado** porque el cartucho es un cartucho independiente del dispositivo de prueba rápida, habiéndose formado la figura (102, 103) por dispensación de una suspensión de partículas coloreada, y porque la intensidad de esta suspensión de partículas coloreada corresponde a la intensidad de una muestra conocida para una prueba rápida.

10 2. Dispositivo de control según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la suspensión de partículas coloreada de la figura se ha hecho de partículas metálicas, tales como oro, partículas de plástico, tales como látex, con el tamaño de partícula de 0,005-2,0  $\mu\text{m}$ .

15 3. Dispositivo de control según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado** porque el soporte (101) es una membrana preparada de material de color claro, tal como nitrocelulosa, celulosa, polivinildifluoruro o nilón.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

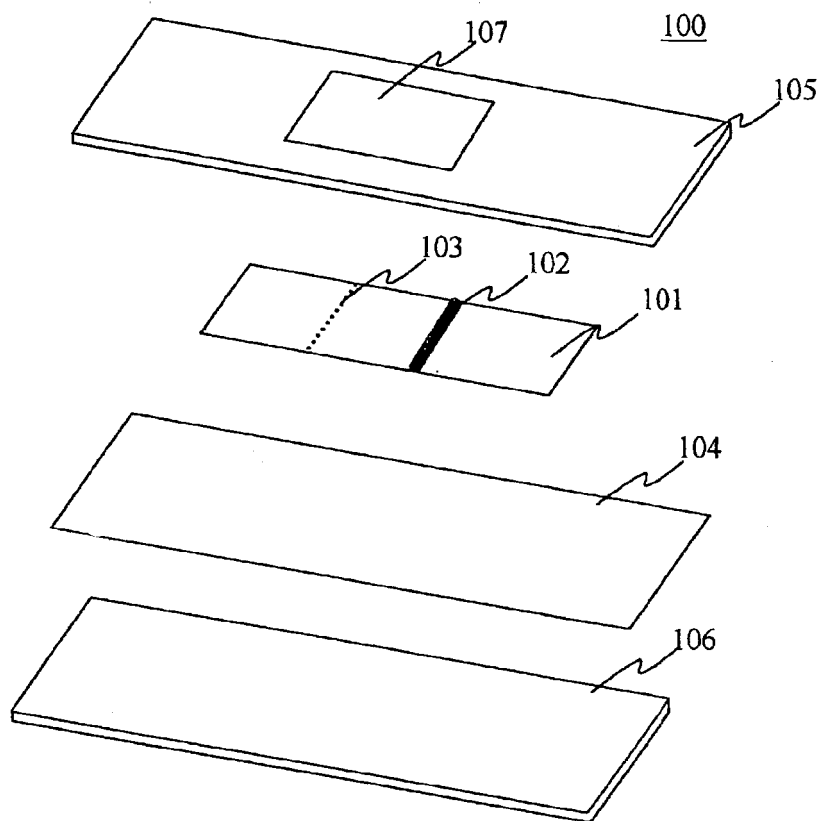


Fig. 1a

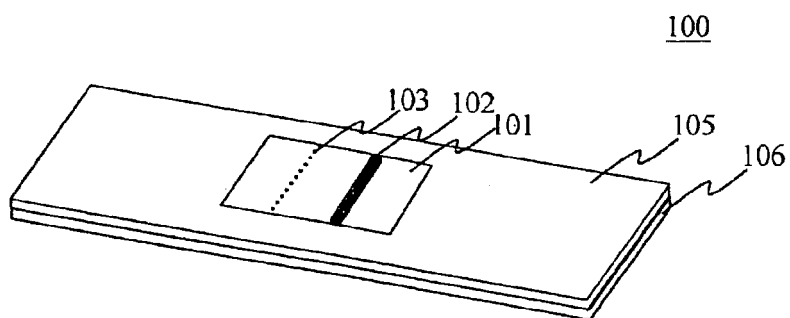


Fig. 1b