

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 855 877

②① N° d'enregistrement national : **04 06067**

⑤① Int Cl⁷ : G 01 N 33/52, G 01 N 21/01

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 04.06.04.

③① Priorité : 04.06.03 GB 00312815; 19.12.03 US
10741416.

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 10.12.04 Bulletin 04/50.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été
établi à la date de publication de la demande.*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : INVERNESS MEDICAL SWITZER-
LAND GMBH — CH.

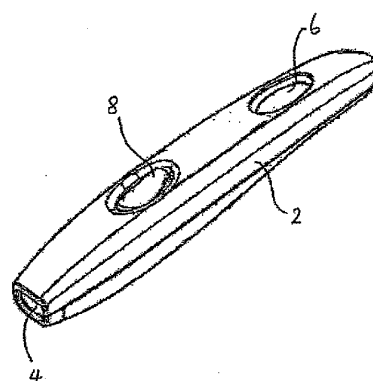
⑦② Inventeur(s) : SHARROCK STEPHEN PAUL et PHE-
LAN ANDREW PETER.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET HIRSCH.

⑤④ DETERMINATION PRECOCE DES RESULTATS DE TESTS.

⑤⑦ Un dispositif pour déterminer le résultat d'un test peut
inclure un circuit de calcul réagissant à un signal représen-
tant la quantité d'un analyte ou le taux d'accumulation d'un
analyte, pour: comparer le signal à un premier seuil; com-
parer le signal à un deuxième seuil, le deuxième seuil étant
inférieur au premier seuil; produire un signal de sortie si le
signal dépasse le premier seuil ou si le signal est inférieur
au deuxième seuil, le signal de sortie indiquant un premier
résultat si le signal dépasse le premier seuil, ou, en variante,
le signal de sortie indiquant un deuxième résultat si le signal
est inférieur au deuxième seuil; et terminer le test si le signal
dépasse le premier seuil ou si le signal est inférieur au
deuxième seuil.



FR 2 855 877 - A1



DETERMINATION PRECOCE DES RESULTATS DE TESTS

DOMAINE DE L'INVENTION

5 La présente invention concerne les dispositifs de lecture de tests pour la mesure d'analytes. En particulier, elle concerne les lecteurs électroniques destinés à l'utilisation avec des bandes de test d'analyse qui utilisent des méthodes optiques de mesure.

10 ARRIERE-PLAN DE L'INVENTION

Des dispositifs analytiques appropriés pour tester chez soi des analytes sont maintenant largement disponibles dans le commerce. Un dispositif d'immunodosage approprié à cet effet pour la mesure de l'hormone de grossesse humaine chorionique gonadotrophine (hCG) est vendu par Unipath sous la marque CLEARBLUE® et est
15 divulgué dans le brevet EP291194.

En particulier, le brevet EP291194 divulgue un dispositif d'immunodosage comprenant un porteur poreux contenant un réactif de liaison spécifique marqué
particulaire pour un analyte, lequel réactif est librement mobile dans l'état humide ; et un réactif de liaison non spécifique non marqué pour le même analyte, lequel réactif
20 est immobilisé dans une zone de détection ou zone de test en aval du réactif de liaison spécifique non marqué. Un échantillon liquide suspecté de contenir un analyte est appliqué au porteur poreux, après quoi il coopère avec le réactif de liaison marqué
particulaire pour former un complexe partenaire de liaison d'analyte. Le marquage
particulaire est coloré et est typiquement de l'or ou un polymère pigmenté, par
25 exemple du latex ou du polyuréthane. Le complexe migre ensuite dans une zone de détection après quoi il forme un autre complexe avec le réactif de liaison spécifique non marqué immobilisé en permettant de détecter ou d'observer le degré de présence
de l'analyte. En raison de la nature des réactions de liaison qui ont lieu, il est
nécessaire d'attendre qu'une certaine période de temps se soit écoulée après le début
30 du test afin de pouvoir lire le résultat. Ceci est particulièrement important pour un type de test visuel, semi-quantitatif, où le résultat se forme au cours du temps, dans la mesure où l'échantillon liquide, qui se trouve typiquement en excès, s'écoule en continu au-delà de la zone de détection, ce qui entraîne une accumulation du complexe d'analyte capturé.

35 De tels dispositifs sont simples à utiliser, et le résultat peut être déterminé visuellement, sans l'aide d'un lecteur électronique. Ils sont également semi-quantitatifs, donnant lieu à un résultat positif ou négatif. En raison de la nature du test, il est nécessaire d'attendre pendant une certaine période de temps de sorte qu'une

quantité suffisante du complexe d'analyte marqué soit capturée dans la zone de détection. Si un résultat était lu trop tôt, il pourrait être interprété comme étant négatif, même l'analyte était en fait présent dans l'échantillon. Au vu de ceci, des instructions indiquant à l'utilisateur d'attendre pendant une certaine période de temps après que l'échantillon a été appliqué afin de visualiser le résultat accompagnent souvent le test. D'autres méthodes incluent un signal qui est produit après qu'une certaine période de temps s'est écoulée, qui indique à l'utilisateur qu'une période de temps suffisante s'est écoulée afin de lire le test, comme divulgué dans notre demande en co-attente n° PCT/EP03/00274.

Le brevet EP653625 divulgue une bande de test d'analyse d'écoulement latéral destinée à l'utilisation en combinaison avec un lecteur de test, permettant de déterminer optiquement le degré de liaison de marquage particulière (c'est-à-dire par un lecteur de test). Le lecteur incorpore en outre un mécanisme de minutage de sorte que le résultat soit affiché après une période préétablie, en éliminant ainsi le besoin pour un utilisateur de chronométrer le test.

Le document US5837546 divulgue un lecteur et une bande de test intégrés où la bande de test est pourvue d'électrodes supplémentaires qui détectent la présence de fluide sur la bande de test qui produit un signal, lequel active l'électronique de détection.

Les tests ci-dessus, toutefois, nécessitent qu'un temps préétabli se soit écoulé avant que le résultat ne soit lu ou affiché. Ceci n'est pas toujours pratique, par exemple dans le cas où le test est utilisé dans une procédure de salle d'urgence et le temps requis pour le résultat est vital. Par exemple, certains kits de test du commerce, à base d'analyses de l'écoulement latéral, pour des marqueurs de lésions cardiaques requièrent jusqu'à 15 minutes environ pour terminer l'analyse. Dans d'autres cas, comme un test de grossesse, l'utilisatrice a le souhait naturel de disposer du résultat aussi rapidement que possible.

RESUME DE L'INVENTION

La présente divulgation propose des dispositifs de test comprenant un lecteur destiné à être utilisé conjointement avec ou en combinaison intégrale avec une bande de test d'analyse. Le lecteur peut, dans certaines circonstances, déterminer un résultat positif ou négatif (c'est-à-dire la présence et/ou la quantité d'un analyte dans un échantillon de test) avant qu'un test ait été terminé.

Dans certains modes de réalisation, un dispositif de lecture du résultat de test peut inclure un circuit de calcul réagissant à un signal représentant la quantité d'analyte ou le taux d'accumulation d'un analyte. Le circuit compare le signal à un premier seuil et compare le signal à un deuxième seuil, le deuxième seuil étant

inférieur au premier seuil. Le circuit produit un signal de sortie indiquant un premier résultat et termine le test si le signal dépasse le premier seuil. Le circuit produit un signal de sortie indiquant un deuxième résultat et termine le test si le signal est inférieur au deuxième seuil.

5 Dans certains modes de réalisation, une méthode de détermination de l'issue d'un test inclut la réalisation du test pour produire un signal représentant la quantité d'un analyte ou le taux d'accumulation d'un analyte ; la comparaison du signal avec des première et deuxième valeurs de seuil ; et la déclaration du résultat du test si le
10 taux déterminé ou la quantité d'accumulation du signal dépasse la valeur seuil supérieure ou est en dessous de la valeur seuil inférieure.

BREVE DESCRIPTION DES DESSINS

La figure 1 est une vue en perspective d'un mode de réalisation d'un dispositif de lecture de résultat de test conformément à la présente divulgation ;

15 la figure 2 est une représentation schématique de certains des composants du mode de réalisation illustré dans la figure 1 ; et

la figure 3 est un graphique illustrant des résultats typiques de lecture (c'est-à-dire d'un signal) en fonction du temps.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

20 Il est préféré, mais en aucun cas essentiel, que le test soit un test de type à écoulement latéral, dans lequel un échantillon liquide, comprenant éventuellement l'analyte d'intérêt, est appliqué à un moyen de transport de liquide (comprenant typiquement un porteur poreux, comme de la nitrocellulose), et migre le long de
25 celui-ci. Des tests de ce type sont bien connus de l'homme de l'art et sont divulgués, par exemple, dans le document EP0291194.

Le signal qui s'accumule au cours de la réalisation du test peut être un signal quelconque approprié à cet effet. De manière commode, l'accumulation du signal comprend la formation ou l'accumulation d'une substance facilement détectable (par
30 exemple un produit de réaction coloré). Plus spécifiquement, le test comprend de préférence l'accumulation d'un réactif marqué, typiquement le dépôt ou l'accumulation du réactif marqué dans la zone de test ou la zone de détection d'un bâtonnet de test à écoulement latéral. Le marqueur peut être, par exemple, une enzyme, un marqueur radioactif, un fluorochrome, une particule colorée ou similaire.
35 En particulier, le test met en œuvre de manière commode l'accumulation d'un réactif de liaison spécifique dans la zone de détection d'un bâtonnet de test à écoulement latéral, le réactif de liaison spécifique étant marqué avec une particule d'or ou d'un polymère coloré, comme du latex.

En général, la présence de l'analyte d'intérêt dans l'échantillon aura tendance à provoquer l'accumulation du signal. Toutefois, dans d'autres formats, (en particulier par exemple des formats de compétition ou de déplacement), c'est l'absence de l'analyte d'intérêt qui peut causer l'accumulation du signal approprié.

5 Dans ce cas aussi, en général, dans ces modes de réalisation du dispositif et de la méthode de la présente divulgation où la présence de l'analyte d'intérêt conduit à l'accumulation du signal, la valeur seuil supérieure est fixée de telle sorte que les niveaux de signal en dessous de cette valeur soient considérés comme négatifs (c'est-à-dire que l'analyte n'est pas présent) et des niveaux au-dessus sont considérés
10 comme positifs.

Si, au bout d'une certaine période temps, le taux ou la quantité d'accumulation du signal n'a pas atteint la limite de seuil inférieur, on considère que le signal n'atteindra jamais le seuil supérieur même si la réaction se poursuivait jusqu'à la fin,
15 et un résultat négatif précoce est alors affiché. Ceci représenterait le cas d'un échantillon fluide ayant une très faible concentration d'analyte.

Inversement, un résultat peut être affiché rapidement si le taux ou la quantité d'accumulation de signal passe la limite de seuil supérieur. Dans le cas d'une concentration d'analyte élevée, la lecture dépassera la limite de seuil supérieur à un
20 moment précoce et par conséquent un résultat peut être affiché plus tôt que d'habitude.

Dans le cas intermédiaire où le taux ou la quantité d'accumulation de signal passe la limite de seuil inférieur avant une certaine période de temps mais ne dépasse pas le seuil supérieur, le lecteur attendra que la lecture passe le seuil supérieur avant
25 d'afficher un résultat positif. Si la lecture ne passe pas le seuil supérieur avant une deuxième période de temps supplémentaire, un résultat négatif est affiché.

Ainsi, le dispositif est capable d'afficher les résultats dès que cela est possible de manière pratique au lieu de devoir nécessairement attendre qu'une durée préétablie se soit écoulée. Un dispositif selon la présente divulgation peut par conséquent
30 généralement indiquer un résultat de test plus rapidement, en particulier lorsque la concentration d'analyte est très élevée ou très basse.

La réaction qui conduit à l'accumulation du signal peut être une réaction appropriée quelconque, par exemple une réaction chimique conventionnelle entre deux entités chimiques, ou une réaction catalysée par une enzyme ou une réaction
35 nécessitant un autre catalyseur, ou peut être une réaction de liaison. Des réactions de liaison préférées mettront en œuvre la liaison d'au moins une molécule biologique. Plus spécifiquement, la réaction mettra en œuvre de préférence la liaison d'organes d'une paire de liaison spécifique ("sbp"). Les sbp sont bien connues de l'homme de

l'art et incluent, entre autres, des paires enzyme/substrat, anticorps/antigène, et ligand/récepteur.

Une réaction préférée implique la liaison d'un complexe réactif/analyte marqué à un réactif de liaison spécifique immobilisé dans une zone de détection d'un
5 bâtonnet de test à écoulement latéral, le signal étant l'accumulation du marqueur dans la zone de détection.

Le lecteur de résultat de test comprendra typiquement un système de détection optique pour détecter l'accumulation du marqueur. De manière commode, le dispositif de lecteur comprendra un moyen de produire un signal (typiquement un
10 signal numérique) qui est proportionnel à la quantité de marqueur accumulée. De manière souhaitable, le système de détection optique peut mesurer une propriété optique, comme la quantité de lumière réfléchie et/ou transmise depuis une zone de détection dans laquelle le marqueur s'accumule. Des systèmes optiques appropriés sont connus de l'homme de l'art et sont divulgués, par exemple, dans EP 0653625.

15 Le système de détection optique préféré comprendra au moins une source de lumière et au moins un photodétecteur (tel qu'une photodiode). Des sources de lumière préférées sont des diodes électroluminescentes ou DEL. La lumière réfléchie et/ou transmise peut être mesurée par le photodétecteur. Pour les besoins de la présente divulgation, la lumière réfléchie est considérée comme signifiant que la
20 lumière provenant de la source de lumière est réfléchie par le porteur poreux ou un autre moyen de transport de liquide sur le photodétecteur. Dans cette situation, le détecteur est typiquement prévu du même côté du porteur que la source de lumière. La lumière transmise signifie la lumière qui passe à travers le porteur et typiquement le détecteur est prévu du côté opposé du porteur à la source de lumière. Pour les
25 besoins d'une mesure de réflectance, le porteur peut être pourvu d'un support tel qu'une couche de plastique réfléchissante MYLAR®. Ainsi, la lumière provenant de la source de lumière tombera sur le porteur, une partie sera réfléchie de sa surface et une partie pénétrera dans le porteur et sera réfléchie à une profondeur quelconque jusqu'à et y compris la profondeur à laquelle la couche réfléchissante est prévue.
30 Ainsi, un type de mesure de réflectance peut en fait faire intervenir la transmission de lumière à travers au moins une partie de l'épaisseur du porteur poreux.

Dans un mode de réalisation, le lecteur comprend un boîtier formé à partir d'un matériau imperméable à la lumière, de manière commode un matériau en plastique synthétique tel que du polycarbonate, de l'ABS, du polystyrène, du polyéthylène
35 haute densité, ou du polypropylène ou du polystyrol contenant un pigment approprié bloquant la lumière.

Le boîtier du lecteur de résultat de test comprend une ouverture telle qu'une bande de test puisse être insérée de manière détachable dans le boîtier et (de

préférence) puisse s'engager avec lui. Le boîtier est conçu de telle sorte que la lumière ambiante entrant à l'intérieur du lecteur soit limitée à un minimum absolu. De manière souhaitable, des moyens appropriés d'alignement et de fixation sont prévus dans le boîtier de sorte que la bande de test reste dans une position fixe une
5 fois insérée. Les sources de lumière sont agencées dans le boîtier de telle sorte que lorsque la bande de test a été insérée correctement, les sources de lumière soient correctement alignées avec les zones respectives à mesurer.

La bande de test d'analyse peut être une bande de test d'analyse à écoulement latéral conventionnelle quelconque telle que divulguée dans EP291194 ou
10 US6352862. La bande de test comprend de préférence un porteur poreux contenant un réactif de liaison spécifique marqué particulière et un réactif de liaison spécifique non marqué. Les sources de lumière et les photodétecteurs correspondants sont de préférence alignés de telle sorte qu'au cours de l'utilisation, la lumière provenant de la source ou des sources de lumière tombe sur les zones respectives sur le porteur
15 poreux et soit réfléchié ou transmise aux photodétecteurs respectifs. Les photodétecteurs produisent un courant proportionnel à la quantité de lumière tombant sur eux, qui est ensuite acheminé à travers une résistance pour produire une tension. La quantité de lumière atteignant le photodétecteur dépend de la quantité de marquage particulière coloré présente et par conséquent de la quantité d'analyte.
20 Ainsi, la quantité d'analyte présente dans l'échantillon peut être déterminée. Cette méthode de détermination optique de la concentration d'analyte est décrite plus complètement dans EP653625.

Dans un mode de réalisation typique, le dispositif de lecture du résultat de test comprendra un ou plus des éléments suivants : une unité de traitement centrale
25 (CPU) ou un microcontrôleur ; une DEL ou plus ; un photodétecteur ou plus ; une source de puissance ; et un circuit électrique associé. La source de puissance peut comprendre une pile ou toute autre source de puissance appropriée (par exemple une cellule photovoltaïque). La CPU ou le microcontrôleur sera programmé(e) de manière commode, pour déterminer à partir de la sortie des photodétecteurs, le taux
30 ou la quantité d'accumulation du signal et pour le ou la comparer aux valeurs de seuil supérieur et inférieur.

Afin de déclarer le résultat du test, le lecteur possédera généralement un certain système d'indication ou de communication du résultat du test à un utilisateur. Celui-ci peut prendre la forme par exemple d'un signal audible ou visuel. De manière
35 souhaitable, le dispositif comprendra un affichage visuel pour afficher le résultat du test. Celui-ci peut simplement avoir la forme d'une ou de plusieurs DEL ou d'autres sources de lumière, de telle sorte que l'illumination d'une source de lumière particulière ou la combinaison de sources de lumières fournisse l'information

nécessaire à l'utilisateur. En variante, le dispositif peut être pourvu d'un affichage alphanumérique ou autre, comme un affichage à cristaux liquides. En plus, ou en variante, de l'affichage du résultat du test, le dispositif peut aussi afficher ou indiquer d'une autre manière à l'utilisateur si le résultat du test particulier devrait être rejeté ou non, par exemple parce qu'un résultat de contrôle a été défaillant. Si le dispositif de lecture détermine qu'un résultat de test particulier devrait être rejeté, il peut demander à l'utilisateur de répéter le test. Des affichages appropriés pour l'affichage de ce type d'informations sont connus de l'homme de l'art et divulgués, par exemple, dans WO 99/51989.

Pour éviter toute confusion, il est indiqué expressément que n'importe lesquelles des caractéristiques décrites ici comme "préférées", "souhaitables", "pratiques", "avantageuses" ou similaires peuvent être adoptées dans un mode de réalisation conjointement avec n'importe quelle(s) autre(s) caractéristique(s) ainsi décrites, ou peuvent être adoptées séparément, sauf si le contexte indique le contraire.

Avantageusement, le dispositif de lecteur aura un moyen quelconque de déterminer le temps écoulé, comme un dispositif d'horloge intégré.

De préférence, le dispositif de lecture est activé lorsqu'un dispositif de test est inséré dans le dispositif de lecteur. Ceci peut être réalisé par l'utilisateur en pressant un commutateur ou un bouton, mais plus préférablement, s'effectue automatiquement, par exemple de telle sorte que l'insertion d'un dispositif de test dans l'orientation correcte et dans la position correcte dans le lecteur provoque son activation. Pour faciliter cela, on préfère que le lecteur et le dispositif de test soient formés et dimensionnés de manière à fournir un ajustement tridimensionnel précis. Ce concept est divulgué et décrit dans EP 0833145. En particulier, l'activation du lecteur et/ou l'insertion d'un dispositif de test dans le lecteur peut déclencher le lecteur pour qu'il commence le chronométrage.

De manière souhaitable, le lecteur est programmé de manière à effectuer une première détermination du taux ou de la quantité d'accumulation du signal après un intervalle de temps prédéterminé (par exemple de 10 secondes après l'activation). Si le taux ou la quantité d'accumulation de signal dépasse le seuil supérieur ou est inférieur au seuil inférieur, et que les valeurs de contrôle (le cas échéant) sont dans des limites acceptables, le test peut être terminé en toute sécurité et les résultats (positif, négatif ou un résultat semi-quantitatif) indiqués à l'utilisateur. Si toutefois, le taux ou la quantité déterminé(e) d'accumulation de signal est au-dessus du seuil inférieur mais en dessous du seuil supérieur, le test doit être poursuivi. Le signal dans ce cas peut être considéré comme un signal intermédiaire.

De manière caractéristique, il existe un point final, t_e , auquel le dispositif de lecteur considère que le test est terminé. Si le signal est encore en dessous de la valeur de seuil supérieur au temps t_e , le résultat du test est négatif (dans les formats dans lesquels c'est la présence de l'analyte d'intérêt qui conduit à la formation du signal). Le point final du test peut ne pas nécessairement se trouver à la fin de la réaction. En fait, le point final t_e sera normalement considéré atteint avant la fin de la réaction.

Le point final t_e peut de manière commode être déterminé par le lecteur en référence à un point particulier dans le temps (c'est-à-dire t_e peut être considéré comme se produisant au bout d'un certain temps après le début du test, par exemple au bout d'un intervalle particulier après l'activation du lecteur et/ou après l'insertion du bâtonnet de test dans le lecteur et/ou l'application de l'échantillon au bâtonnet de test). Pour des raisons d'illustration, t_e se produira typiquement entre 1 et 10 minutes, de préférence entre 1 et 5 minutes après le commencement du test.

De manière souhaitable, le lecteur de résultat sera programmé de manière à répéter la mesure du test si un signal intermédiaire est obtenu. Dans un mode de réalisation simple, la mesure est répétée au temps t_e . De préférence toutefois, la mesure est répétée une ou plusieurs fois avant le point final. Plus préférablement, le dispositif de lecteur est programmé pour répéter la mesure à intervalles réguliers (par exemple des intervalles de 1 seconde ou de 5 secondes) jusqu'à ce que le signal dépasse le seuil supérieur ou jusqu'à t_e , selon ce qui se produit en premier.

L'inclusion d'une horloge ou d'un autre dispositif de chronométrage dans le lecteur de résultat de test est souhaitable de sorte que le lecteur puisse automatiquement prendre des mesures à des instants prédéterminés dans le temps, sans que l'utilisateur ne doive intervenir.

Ainsi, par exemple, le lecteur peut être programmé pour prendre des mesures à un instant initial t_0 et si nécessaire, de prendre des mesures répétées à un intervalle quelconque souhaité par la suite jusqu'à ce que le signal dépasse le seuil supérieur ou que t_e soit atteint, comme décrit ci-dessus.

En outre, une horloge ou un autre dispositif de chronométrage facilite la détermination par le dispositif de lecture du taux d'accumulation du signal. Si des mesures de la quantité de signal sont prises à deux instants ou plus (avec une séparation temporelle connue), le taux d'accumulation de signal peut alors être facilement calculé.

Il convient de noter que le taux ou la quantité d'accumulation de signal pourrait être mesuré(e) en termes absolus ou sous forme d'une vanne relative (par exemple par comparaison avec une valeur de contrôle ou une autre valeur de comparaison, éventuellement obtenue à partir d'une réaction substantiellement contemporaine).

EXEMPLES

Exemple 1

Un mode de réalisation d'un dispositif de lecture de résultat d'un test est illustré dans la figure 1.

Le dispositif de lecture mesure environ 12 cm de long et environ 2 cm de large et est généralement en forme de doigt ou de cigare. Dans des modes de réalisation préférés, le boîtier n'est pas plus grand qu'environ 12 cm de long, environ 2,5 cm de large, et environ 2,2 cm de haut. Toutefois, toute forme convenable peut être utilisée, comme par exemple un lecteur en forme de carte de crédit. Le dispositif comprend un boîtier 2 formé à partir d'un matériau en plastique synthétique imperméable à la lumière (par exemple du polycarbonate, de l'ABS, du polystyrène, du polyéthylène haute densité, ou du polypropylène ou du polystyrol contenant un pigment approprié bloquant la lumière, comme du carbone). A une extrémité du dispositif de lecture est prévue une fente ou une ouverture étroite 4 par laquelle une bande de test (non illustrée) peut être insérée dans le lecteur.

Sur sa face supérieure, le lecteur comprend deux ouvertures de forme ovale. Une ouverture reçoit l'écran d'un affichage à cristaux liquides 6 qui affiche des informations à un utilisateur, par exemple le résultat d'un test, en termes qualitatifs ou quantitatifs. L'autre ouverture reçoit un mécanisme d'éjection 8 qui, lorsqu'il est actionné, éjecte de force un dispositif de test inséré du dispositif de lecture de résultat de test.

Le dispositif de test destiné à l'utilisation avec le dispositif de lecture est un bâtonnet de test à écoulement latéral généralement conventionnel, par exemple du type divulgué dans US 6 156 271, US 5 504 013, EP 728309 ou EP 782707. Le dispositif de test et une surface ou des surfaces de la fente dans le lecteur, dans lequel le dispositif de test est inséré, sont dimensionnés de telle sorte que (1) le dispositif de test puisse être inséré avec succès dans le lecteur seulement dans l'orientation correcte ; et (2) qu'il y ait un alignement précis tridimensionnel du lecteur et d'un dispositif de test inséré, qui garantisse que le résultat du test puisse être lu correctement par le lecteur.

Une combinaison de dispositif de test/dispositif de lecteur appropriée présentant cet alignement tridimensionnel précis est divulguée dans EP 833145.

Lorsqu'un dispositif de test est inséré correctement dans le lecteur, un commutateur est fermé, lequel active le lecteur d'un mode de "veille", qui est l'état normal adopté par le lecteur, en réduisant ainsi la consommation d'énergie.

A l'intérieur du boîtier du lecteur (et donc non visible dans la figure 1), est enfermé un certain nombre de composants supplémentaires, illustrés schématiquement dans la figure 2.

- 5 Si l'on se réfère à la figure 2, le lecteur comprend trois DEL 10a, b, et c. Lorsqu'un bâtonnet de test est inséré dans le lecteur, chaque DEL 10 est alignée avec une zone respective du bâtonnet de test. La DEL 10a est alignée avec la zone de test, la DEL 10b est alignée avec la zone de référence, et la DEL 10c est alignée avec la zone de contrôle. Des photodiodes respectives 12 détectent la lumière réfléchie des
10 diverses zones et produisent un courant, dont l'amplitude est proportionnelle à la quantité de lumière incidente sur les photodiodes 12. Le courant est converti en une tension, tamponnée par le tampon 14 et acheminée dans un convertisseur analogique numérique (ADC, 16). Le signal numérique résultant est lu par le microcontrôleur 18.
- 15 Dans un agencement simple, une photodiode séparée est prévue pour détecter de chaque zone (c'est-à-dire le nombre de photodiodes est égal au nombre de zones desquelles les mesures de la lumière réfléchie sont effectuées). L'agencement illustré dans la figure 2 est plus sophistiqué, et préféré. Deux photodiodes 12 sont prévues. Une photodiode détecte la lumière réfléchie de la zone de test et une partie de la
20 lumière réfléchie de la zone de référence. L'autre photodiode 12 détecte une partie de la lumière réfléchie de la zone de référence et la lumière réfléchie de la zone de contrôle. Le microcontrôleur 18 commute les DEL 10 une après l'autre, de sorte que seulement l'une des trois zones est illuminée à tout moment, et de cette manière le signal produit par la lumière réfléchie des zones respectives peut être distingué sur
25 une base temporelle.

La figure 2 illustre en outre, schématiquement, le commutateur 20 qui est fermé par l'insertion d'un dispositif de test dans le lecteur, et qui active le microcontrôleur 18. Bien que cela ne soit pas illustré dans la figure 2, le dispositif
30 comprend en outre une source de puissance (typiquement une ou deux cellules à touches) et un dispositif à cristaux liquides réagissant à la sortie du microcontrôleur 18.

En fonctionnement, un bâtonnet de test sec (c'est-à-dire avant la mise en contact avec l'échantillon) est inséré dans le lecteur, ce qui ferme le contact 20 et active le dispositif de lecture, qui effectue alors un calibrage initial. L'intensité de la
35 lumière provenant des diverses DEL est rarement identique. De manière similaire, les photodétecteurs respectifs ont peu de chance d'avoir les mêmes sensibilités. Comme une telle variation pourrait affecter la lecture du test, un calibrage initial est effectué,

dans lequel le microcontrôleur ajuste la longueur de temps durant laquelle chacune des trois DEL est allumée, de sorte que le signal mesuré de chacune des trois zones (de test, de référence et de contrôle) soit approximativement égal et en une position de fonctionnement appropriée dans une région linéaire du profil de réponse du système (de sorte qu'un changement d'intensité lumineuse de la lumière réfléchie des
5 diverses zones produise un changement directement proportionnel du signal).

Une fois le calibrage initial effectué, le dispositif effectue un autre calibrage plus fin. Ceci implique de faire une mesure ("valeur de calibrage") de l'intensité de la lumière réfléchie pour chaque zone tandis que le bâtonnet de test est sec - les
10 mesures subséquentes ("valeurs de test") sont normalisées en référence à la valeur de calibrage pour les zones respectives (c'est-à-dire que la valeur normalisée = valeur de test / valeur de calibrage).

Pour effectuer un test, une portion du bâtonnet de test recevant l'échantillon est mise en contact avec l'échantillon liquide. Dans le cas d'un échantillon d'urine, la
15 portion recevant l'échantillon peut être tenue dans un courant d'urine, ou un échantillon d'urine peut être recueilli dans un récipient et la portion recevant l'échantillon peut être immergée pendant un court instant (environ 5 à 10 secondes) dans l'échantillon. L'échantillonnage peut être effectué tandis que le bâtonnet de test est inséré dans le lecteur ou, moins préférablement, le bâtonnet peut être brièvement
20 retiré du lecteur pour l'échantillonnage puis réintroduit dans le lecteur.

Des mesures de l'intensité de la lumière réfléchie d'une ou de plusieurs (de préférence des trois) zones sont ensuite réalisées, typiquement après un intervalle de temps spécifique suivant l'insertion du bâtonnet de test dans le lecteur. De manière souhaitable, les mesures sont prises à intervalles réguliers (par exemple à intervalles
25 de 1 à 10 secondes, de préférence à intervalles de 1 à 5 secondes). Les mesures sont effectuées sous forme d'une séquence de plusieurs lectures sur des périodes de temps courtes (10 millisecondes ou moins), intercalées d'une zone à l'autre, en minimisant ainsi les effets possibles dus à la variation de l'intensité de lumière ambiante qui pourrait pénétrer à l'intérieur du boîtier du lecteur.

30

Exemple 2

La figure 3 illustre des résultats typiques pour trois échantillons différents, en termes de quantité de signal ("lecture", en unités arbitraires) en fonction du temps (en secondes).

35 La quantité de signal est une mesure de la lumière absorbée ou de la diminution de la lumière réfléchie, depuis la zone de test d'un bâtonnet de test à écoulement latéral telle qu'elle pourrait être déterminée en utilisant le lecteur de résultat de test décrit dans l'exemple précédent. En présence de l'analyte d'intérêt, un réactif de

liaison marqué particulière coloré s'accumule dans la zone de test. Le marqueur particulière coloré absorbe une partie de la lumière tombant sur la zone de test, et ceci réduit la quantité de lumière réfléchiée par celle-ci, qui est disponible pour la détection par un photodétecteur positionné de manière appropriée. Plus la
 5 concentration d'analyte est élevée, plus le taux d'accumulation du marqueur dans la zone de test sera rapide, et plus fort sera le "signal".

Le tracé 1 illustre un graphe typique qui pourrait être obtenu à partir d'un échantillon liquide qui contient une grande concentration d'analyte. Le tracé 3 illustre un graphe typique qui pourrait être obtenu à partir d'un échantillon liquide qui
 10 contient une très faible concentration d'analyte. Le tracé 2 illustre un graphe typique qui pourrait être obtenu à partir d'un échantillon liquide contenant une concentration intermédiaire d'analyte.

Le graphique illustre également deux lignes horizontales qui indiquent les valeurs de seuil supérieur ("U") et de seuil inférieur ("L") respectivement.

15 Si l'on se réfère au tracé 1, le lecteur est programmé pour effectuer une lecture initiale à l'instant $t(1)$, à une période de temps prédéterminée après le début du test. La lecture obtenue est en dessous de la valeur de "U", de sorte qu'un résultat positif précoce ne peut pas être déclaré en $t(1)$.

De même, la lecture est au-dessus de la valeur de "L", de sorte qu'un résultat
 20 négatif précoce ne peut pas non plus être déclaré en $t(1)$. Dans cette situation, le lecteur est programmé pour répéter la mesure au bout d'une période de temps prédéterminée supplémentaire, en $t(2)$. En $t(2)$, la lecture du tracé 1 vient juste de dépasser la valeur de U, de sorte que le lecteur peut rapidement indiquer que le résultat est positif, par le biais du dispositif à cristaux liquides.

25 Si l'on se réfère au tracé 3, en $t(1)$, la lecture initiale est en dessous de la valeur de L, de sorte que le lecteur peut déclarer rapidement un résultat négatif, dans la mesure où l'on peut prédire que la valeur ne dépassera jamais le seuil supérieur avant le point final prédéterminé du test t_e .

Si l'on se réfère au tracé 2, la lecture initiale à l'instant $t(1)$ est, comme pour le
 30 tracé 1, en dessous de la valeur de U mais au-dessus de la valeur de L, de sorte qu'un résultat positif ou négatif précoce ne peut pas être déclaré. Il en va de même en $t(2)$. Si on le souhaite, le lecteur peut être programmé pour effectuer un certain nombre de lectures supplémentaires en $t(3)$, $t(4)$, etc., jusqu'à ce que la lecture finale soit effectuée à t_e . Pour le tracé 2, la lecture finale à t_e est toujours en dessous de la valeur
 35 de U, de sorte que le résultat du test serait négatif.

Les commentaires suivants s'appliquent de manière générale, et pas seulement à l'exemple décrit immédiatement ci-dessus. Il convient de noter qu'au lieu de mesurer des lectures absolues, des valeurs peuvent être calculées par rapport au taux

de changement de lecture en fonction du temps, ou $d(\text{lecture})/d(\text{temps})$. En variante, le taux de changement de pente en fonction du temps peut être mesuré ou $d^2(\text{lecture}/d(\text{temps}))^2$ ou l'intégrale $\int d(\text{lecture})$ en fonction de deux valeurs de temps ou plus, à savoir la surface définie par la courbe. Ceci présente l'avantage que la

5 lecture est moyennée dans le temps, ce qui lisse les anomalies. En variante, le taux de changement de pente en fonction du temps peut être mesuré, ou $d^2(\text{lecture}/d(\text{temps}))^2$. En variante supplémentaire, la totalité ou certaines des mesures ci-dessus peuvent être effectuées en combinaison pour fournir un résultat. Ainsi, au lieu de fournir un

10 résultat précoce sur la base de la valeur de la lecture dépassant un seuil inférieur ou supérieur, le lecteur peut faire cette évaluation sur la base du calcul d'une première ou d'une deuxième différentielle, d'une intégrale ou d'une combinaison d'une ou de plusieurs de celles-ci. En outre, un résultat précoce peut être déclaré rapidement après que la lecture a dépassé le seuil inférieur mais que le lecteur détermine que le

15 résultat ne dépassera pas la valeur seuil supérieure avant que la lecture ait atteint l'équilibre.

En outre, on peut noter que les valeurs des limites au moins du seuil supérieur et du seuil inférieur peuvent être ajustées au cours de la lecture du test. Ceci peut s'effectuer sur la base des lectures obtenues plus tôt au cours du test. Il est toutefois préférable que ces valeurs restent constantes au cours d'un test individuel.

20 Au lieu de déclarer rapidement le résultat, le lecteur peut attendre un certain temps défini avant de déclarer un résultat. Ceci fournit une fonction de contrôle supplémentaire, de sorte que par exemple un résultat ne soit pas déclaré avant que diverses vérifications de contrôle aient été effectuées sur la bande de test, le lecteur, ou les deux. Une telle situation pourrait se produire pour un échantillon ayant une

25 concentration en analyte extrêmement élevée ou basse.

Exemple 3

Un dispositif de lecture de résultat de test a été créé pour effectuer des déterminations de grossesse sur la base de la concentration d'hCG dans les urines. La

30 bande de test inclut un anticorps anti-hCG couplé à un chromophore.

Le seuil supérieur a été fixé à un gain d'atténuation de 10% (AG) (signal par rapport à référence), et le seuil inférieur a été fixé à un gain d'atténuation de 6% (contrôle par rapport à référence). 10% AG correspond à environ 15 mIU hCG pour une nouvelle bande de test et 25mIU pour une bande de test ancienne (le

35 vieillissement est supposé provoquer une décroissance de l'anticorps, ce qui résulte en une augmentation apparente du signal) et 6% AG correspond à environ 5mIU. Dans d'autres modes de réalisation, le seuil supérieur peut être fixé entre 10 et

environ 90% AG, et le seuil inférieur entre environ 1% et environ 9%, bien qu'en principe d'autres plages de valeurs puissent être choisies.

La référence de temps initiale ($t=0$) est fixée lorsque le signal contrôle par rapport à référence passe par zéro. Cela signifie que le fluide de l'échantillon a atteint la ligne de contrôle. L'horloge est alors mise en route. Le signal d'analyte est comparé aux valeurs de seuil comme décrit ci-avant. L'instant le plus précoce pour un résultat positif (enceinte) est fixé à 20 secondes, et l'instant le plus précoce pour un résultat négatif est fixé à 60 secondes. Dans d'autres modes de réalisation, bien sûr, d'autres périodes de temps peuvent être fixées.

Les dispositifs et méthodes divulgués peuvent naturellement être adaptés pour l'utilisation avec une large variété d'analytes. En particulier, il convient de noter que les dispositifs et les méthodes divulgués peuvent être utilisés dans des situations dans lesquelles un résultat négatif est attendu seulement en l'absence d'analyte, et aussi dans des situations dans lesquelles un résultat négatif est approprié même si l'analyte est présent dans une certaine quantité. Un exemple de la première situation est un test pour un pathogène, comme VIH ou strep A. Toutefois, même en l'absence d'analyte, un seuil inférieur est toujours fixé et un test de seuil employé, parce que sinon une liaison non spécifique pourrait résulter en une lecture d'arrière-plan positive erronée.

Un exemple de la deuxième situation est un lecteur de résultat de test pour l'ovulation qui mesure l'hormone lutéinisante (LH), parce que la LH est normalement présente au niveau basal et augmente brutalement juste avant l'ovulation ; un résultat positif est souhaité au cours de l'augmentation brutale et un résultat négatif au cours du niveau basal.

Exemple 4

Les exemples susmentionnés se réfèrent à des dispositifs de lecture de résultats de tests qui fonctionnent comme tests à usage unique, c'est-à-dire qu'une seule bande de test est testée pour un résultat de test unique. Les valeurs de seuil restent typiquement fixées d'un test à l'autre pour la fiabilité et la reproductibilité.

Toutefois, certains modes de réalisations peuvent employer une série de bandes de test afin de suivre la quantité d'analyte au cours du temps, et pour ajuster les valeurs de seuil d'une bande à l'autre dans la série afin de fournir des résultats précis.

Un exemple d'un tel système est un lecteur de résultat de test qui mesure l'hormone lutéinisante (LH) pendant plusieurs jours pour prédire l'ovulation sur la base de la détection de "l'augmentation brutale de LH" juste avant l'ovulation. Dans une procédure typique, on effectue une première mesure. Si elle est au-dessus d'un certain seuil supérieur (par exemple supérieure à 16% AG), un résultat positif indiquant une "augmentation brutale de LH" est renvoyé. Si la mesure est en dessous

de ce seuil, le seuil supérieur pour le test suivant est alors ajusté, en fonction du niveau mesuré. Par exemple, si le signal est inférieur à 7% AG, le seuil supérieur est abaissé à 13%. Si la mesure pour la première bande de test est inférieure à respectivement 5% ou 3%, des valeurs respectives de 12% et de 11% sont choisies.

- 5 Ainsi, l'algorithme choisit le seuil sur la base de la mesure du jour précédent, mais il pourrait aussi s'agir d'une moyenne des mesures des jours précédents. Ainsi, en général, les seuils n'ont pas nécessairement besoin d'être fixés.

Exemple 5

- 10 Dans certains modes de réalisation, le dispositif de lecture du résultat de test inclut un système de mémoire qui mémorise des résultats de test antérieurs accumulés pendant une certaine période de temps. Par exemple, le dispositif peut être configuré pour tester la présence d'une drogue ou d'un métabolite de celle-ci, et le système de mémoire peut mémoriser des résultats de tests périodiques. Le dispositif
15 inclut également un système pour visualiser ou retirer des résultats de tests, comme par un affichage, et une connexion électronique ou similaire.

Exemple 6

- 20 Dans certains modes de réalisation, le dispositif de lecture de résultat de test comporte un système de mémoire qui mémorise des profils de test pour une diversité d'analytes. Un profil peut inclure, par exemple, le seuil supérieur et le seuil inférieur. Le profil peut en outre comporter des périodes de temps pour effectuer des comparaisons de seuils. De cette manière, un dispositif de lecture de résultat de test unique peut être utilisé pour effectuer une diversité de tests d'analyte.

- 25 Le dispositif comporte en outre un système de sélection qui sélectionne le profil approprié pour l'analyte souhaité. Dans certains modes de réalisation, le système de sélection peut être un commutateur qu'un utilisateur règle sur le test souhaité. Dans d'autres modes de réalisation, le système de sélection détecte une fonction sur une bande de test d'analyse indiquant l'analyte à mesurer. Par exemple,
30 la bande de test peut avoir un code à barres ou un autre motif optique. En variante, une bande de test peut être configurée de manière à renvoyer de la lumière à une certaine fréquence ou dans une plage de fréquences qui est caractéristique d'un analyte particulier. Le système de mémoire a une table à consulter à laquelle le système de sélection peut avoir accès pour identifier un analyte sur la base de la
35 fréquence de la lumière renvoyée.

REVENDICATIONS

1. Dispositif pour déterminer le résultat d'un test, comprenant :
un circuit de calcul, réagissant à un signal représentant la quantité d'un analyte
5 ou le taux d'accumulation d'un analyte, pour :
comparer le signal à un premier seuil ;
comparer le signal à un deuxième seuil, le deuxième seuil étant inférieur au
premier seuil ;
produire un signal de sortie si le signal dépasse le premier seuil ou si le signal
10 est inférieur au deuxième seuil, le signal de sortie indiquant un premier résultat si le
signal dépasse le premier seuil, ou, en variante, le signal de sortie indiquant un
deuxième résultat si le signal est inférieur au deuxième seuil ; et
terminer le test si le signal dépasse le premier seuil ou si le signal est inférieur
au deuxième seuil.
15
2. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel le premier résultat est
un résultat positif, et le deuxième résultat est un résultat négatif.
3. Dispositif selon la revendication 1 ou 2, dans lequel le circuit de
20 calcul réagit en outre au signal pour répéter les comparaisons et la production
conditionnelle si le signal est compris entre le premier seuil et le deuxième seuil.
4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1, 2 ou 3,
comprenant en outre un système de détection optique pour mesurer le signal.
25
5. Dispositif selon la revendication 4, dans lequel le système de détection
optique comprend au moins une source de lumière et au moins un photodétecteur.
6. Dispositif selon la revendication 4, dans lequel le système de détection
30 optique comprend au moins trois sources de lumière et deux photodétecteurs.
7. Dispositif selon la revendication 6, dans lequel les au moins trois
sources de lumière comprennent trois diodes électroluminescentes et les au moins
deux photodétecteurs comprennent deux photodiodes.
35
8. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes,
comprenant en outre une minuterie connectée au circuit de calcul.

9. Dispositif selon la revendication 8, dans lequel les comparaisons sont effectuées dans un intervalle d'environ 1 s les unes des autres.
10. Dispositif selon la revendication 8, dans lequel les comparaisons sont effectuées dans un intervalle d'environ 60 s les unes des autres.
11. Dispositif selon la revendication 8, dans lequel les comparaisons sont effectuées dans un intervalle d'au moins 30 s les unes des autres.
12. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant en outre un boîtier renfermant le circuit de calcul.
13. Dispositif selon la revendication 12, dans lequel le boîtier n'est pas plus grand qu'environ 12 cm de long, environ 2,5 cm de large et environ 2,2 cm de haut.
14. Dispositif selon la revendication 12, comprenant en outre au moins une source de lumière et au moins un photodétecteur, et dans lequel :
le boîtier définit une ouverture pour recevoir au moins une portion d'une bande de test à l'intérieur du dispositif, la bande de test ayant au moins une zone, et l'ouverture, la source de lumière et le photodétecteur sont positionnés, dimensionnés et formés de telle sorte qu'à l'insertion de la bande de test, la lumière émise de la source de lumière soit incidente sur la zone et la lumière provenant de la zone soit incidente sur le photorécepteur, et dans lequel le photorécepteur produit un signal représentant une quantité d'analyte dans la zone.
15. Dispositif selon la revendication 14, dans lequel le boîtier n'est pas plus grand qu'environ 12 cm de long, environ 2,5 cm de large et environ 2,2 cm de haut.
16. Dispositif selon la revendication 14, dans lequel l'au moins une source de lumière comprend trois sources de lumière, et l'au moins un photodétecteur comprend deux photodétecteurs.
17. Dispositif selon la revendication 16, dans lequel les au moins trois sources de lumière comprennent trois diodes électroluminescentes, et les au moins deux photodétecteurs comprennent deux photodiodes.

18. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant en outre au moins une source de lumière, au moins un photodétecteur et une bande de test ayant au moins une zone, la source de lumière, le photodétecteur et la bande de test étant positionnés, dimensionnés et formés de telle sorte que la lumière émise par la source de lumière soit incidente sur la zone et que la lumière provenant de la zone soit incidente sur le photorécepteur et le photorécepteur produisant un signal représentant une quantité d'analyte dans la zone.

19. Dispositif selon la revendication 18, dans lequel les au moins trois sources de lumière comprennent trois diodes électroluminescentes et les au moins deux photodétecteurs comprennent deux photodiodes.

20. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant en outre un système de mémoire pour mémoriser des résultats de test.

21. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel le système de mémoire réagit en outre au signal pour ajuster une ou les deux valeurs de seuil.

22. Dispositif de lecture de résultat de test pour lire le résultat d'un test pour détecter la présence et/ou la quantité d'un analyte d'intérêt et dans lequel la présence ou l'absence, de manière appropriée selon le cas, de l'analyte d'intérêt, provoque une réaction qui conduit à l'accumulation d'un signal en fonction du temps, le dispositif comprenant :

- un moyen pour déterminer le taux ou la quantité d'accumulation de signal ;
- un moyen pour comparer le taux ou la quantité déterminé(e) d'accumulation de signal avec une valeur de seuil supérieur ;
- un moyen pour comparer le taux ou la quantité déterminé(e) d'accumulation de signal avec une valeur de seuil inférieur ; et
- un moyen pour déclarer le résultat du test si le taux ou la quantité déterminé(e) d'accumulation de signal dépasse la valeur de seuil supérieur ou est inférieur(e) à la valeur de seuil inférieur ou à un instant où l'on détermine que le taux ou la quantité d'accumulation de signal ne dépassera pas ou ne dépassera probablement pas la valeur de seuil inférieur avant que le test soit terminé.

23. Méthode pour déterminer le résultat d'un test, comprenant :

- la réalisation du test pour produire un signal représentant la quantité d'analyte ou le taux d'accumulation d'un analyte ;
- la comparaison du signal avec une première valeur de seuil ;
- la comparaison du signal avec une deuxième valeur de seuil ; et
- 5 la déclaration du résultat du test si le taux ou la quantité déterminé(e) d'accumulation de signal dépasse la valeur de seuil supérieur ou est en dessous de la valeur de seuil inférieur.

24. Méthode selon la revendication 23, dans laquelle la comparaison est
10 effectuée avant que le test n'atteigne l'équilibre.

25. Méthode pour déterminer le résultat ou l'issue d'un test pour détecter la présence et/ou la quantité d'un analyte d'intérêt, la méthode comprenant :
- 15 la réalisation du test de manière à provoquer la réaction qui conduit à l'accumulation d'un signal en fonction du temps ;
 - la détermination, typiquement avant que la réaction n'ait atteint l'équilibre, du taux ou de la quantité d'accumulation de signal ;
 - la comparaison du taux ou de la quantité déterminé(e) avec une valeur de seuil supérieur et inférieur ; et
 - 20 la déclaration du résultat ou de l'issue du test si le taux ou la quantité déterminé(e) d'accumulation de signal dépasse la valeur de seuil supérieur ou est inférieur(e) à la valeur de seuil inférieur ou à un instant où l'on détermine que le taux ou la quantité d'accumulation de signal ne dépassera pas ou ne dépassera probablement pas la valeur de seuil inférieur avant que le test soit terminé.

25

26. Méthode selon la revendication 25, comprenant en outre l'étape de définition d'au moins une valeur de seuil supérieur et inférieur.

1/2

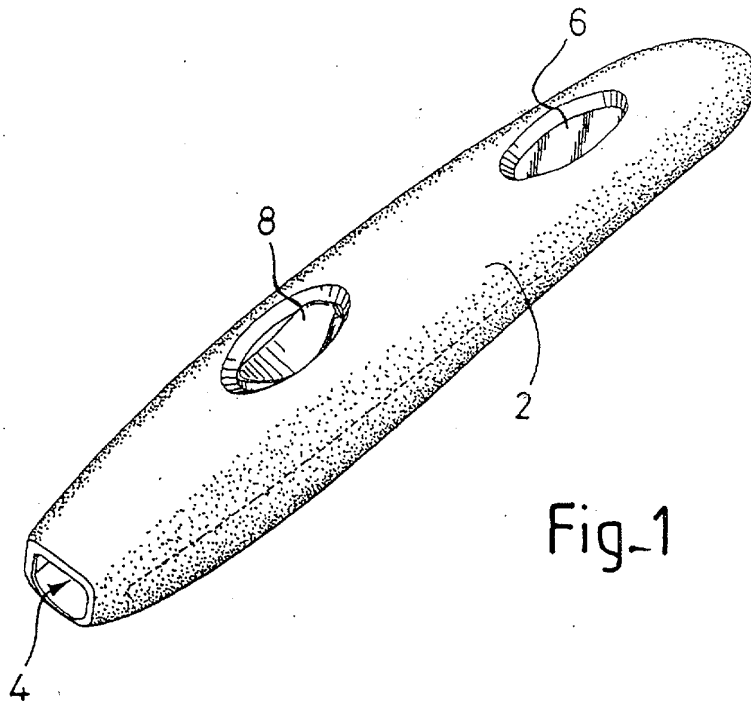


Fig-1

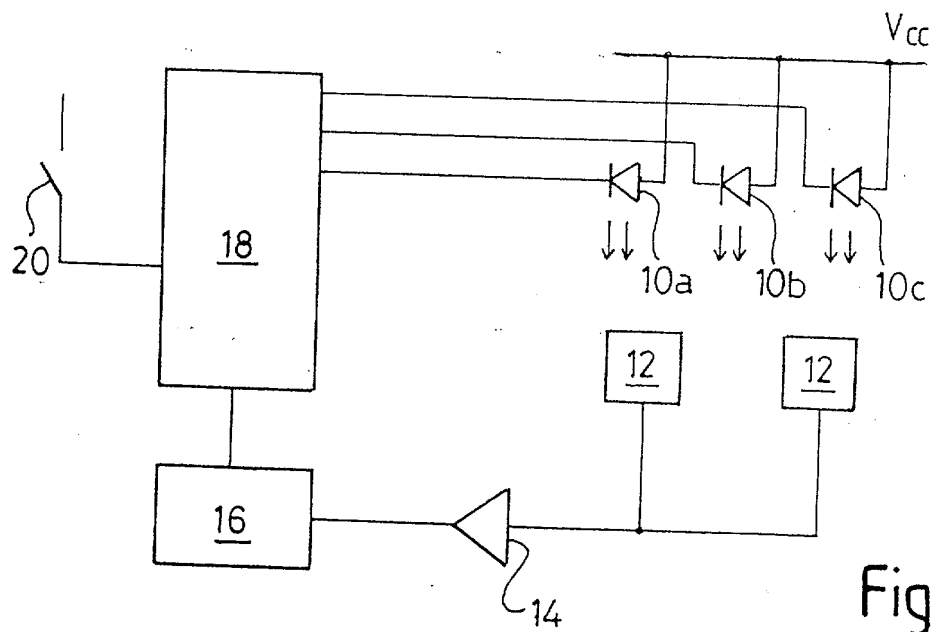


Fig. 2

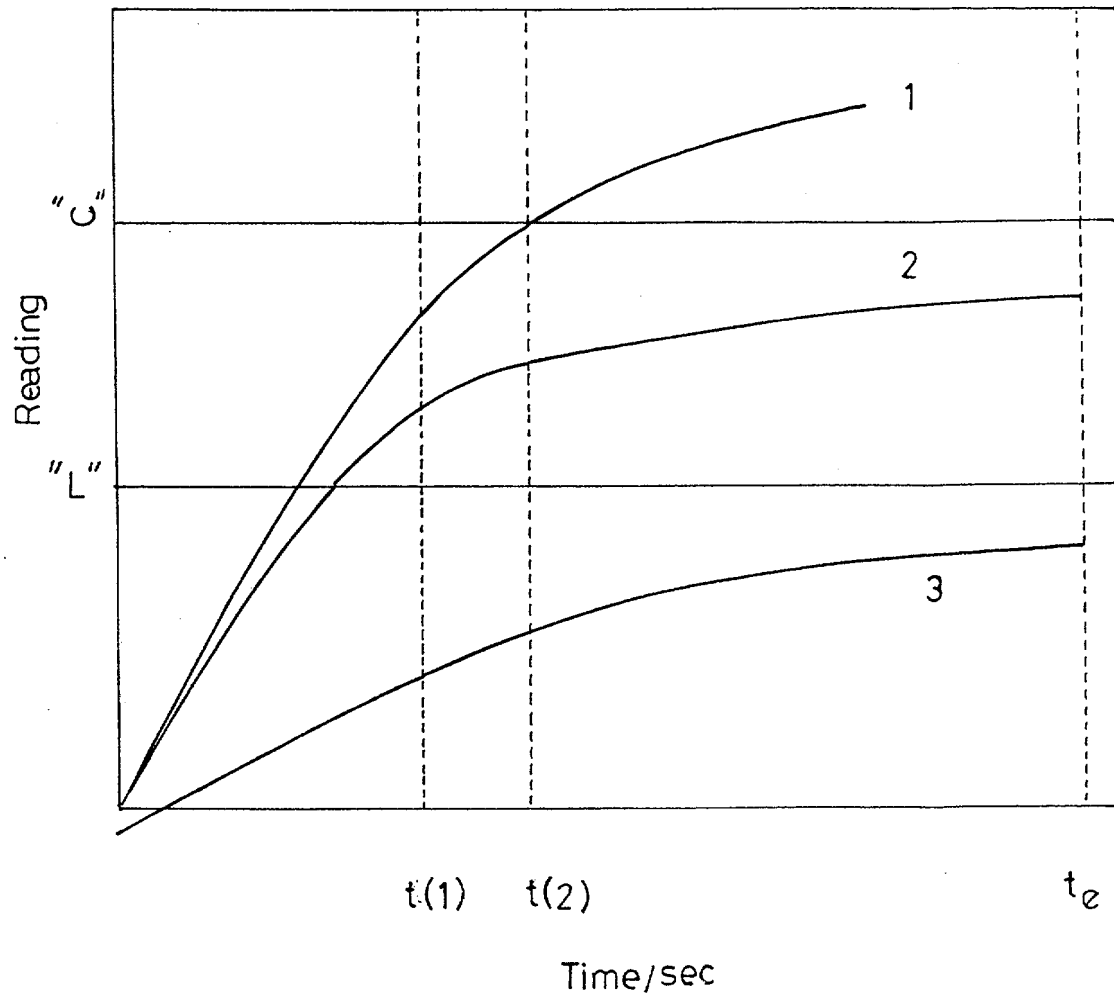
$2/2$ 

Fig. 3