

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale
WO 2019/068806 A1

(43) Date de la publication internationale
11 avril 2019 (11.04.2019)

- (51) Classification internationale des brevets :
G01N 33/543 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01) BE2017/5708 04 octobre 2017 (04.10.2017) BE
G01N 33/558 (2006.01) *G01N 33/58* (2006.01) BE2017/5709 04 octobre 2017 (04.10.2017) BE
G01N 33/94 (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2018/076993
- (22) Date de dépôt international :
04 octobre 2018 (04.10.2018)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
BE2017/5705 04 octobre 2017 (04.10.2017) BE
BE2017/5706 04 octobre 2017 (04.10.2017) BE
BE2017/5707 04 octobre 2017 (04.10.2017) BE
- (71) Déposant : UNISENSOR [BE/BE] ; Route de Bonsignée 145, 4120 Neupré (BE).
- (72) Inventeurs : CHABOTTAUX, Vincent ; 19 RUE JEAN BOSLY, 4020 Wandre (BE). GLOUDEN, Thomas ; 224 VIEILLE-VOIE-DE-TONGRES, 4000 Liège (BE). GRANIER, Benoit ; Route de Bonsignée 145, 4120 Neupré (BE).
- (74) Mandataire : GEVERS PATENTS ; Holidaystraat 5, 1831 Diegem (BE).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA,

(54) Title: DIAGNOSTIC MEANS FOR THE DETECTION AND/OR QUANTIFICATION OF A PLURALITY OF ANALYTES PRESENT IN A SAMPLE

(54) Titre : MOYEN DE DIAGNOSTIC POUR LA DÉTECTION ET/OU LA QUANTIFICATION D'UNE PLURALITÉ D'ANALYTES PRÉSENTS DANS UN ÉCHANTILLON

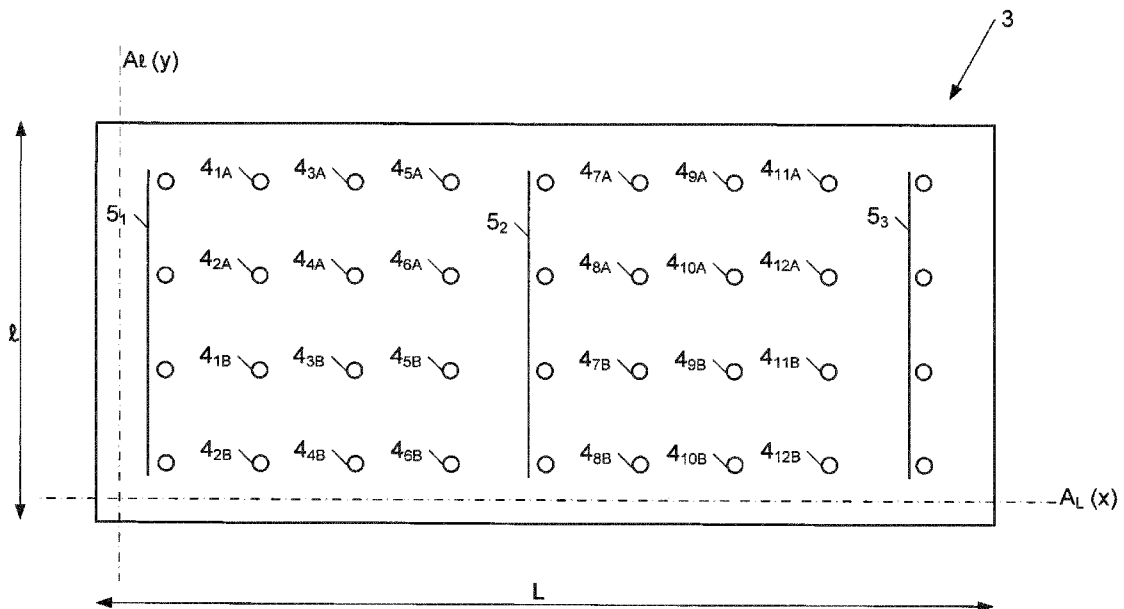


Fig. 3

(57) Abstract: An immunochromatographic diagnostic means (1) for the detection and/or quantification of a plurality of analytes present in an essentially liquid sample (E) comprising: - at least one reaction mixture (2) containing biological recognition molecules and/or competitive ligands labelled with at least one fluorescence-detectable visualisation molecule, said reaction mixture being present in a separate container of said recovery system (3); and - at least one recovery system (3) in the form of a solid support to which competitive ligands and/or biological recognition molecules are fixed at recovery positions (4 and 5) that are distinct and known and that are arranged according to a two-dimensional matrix-like arrangement defined according to a coordinate system, so as to identify,

CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

by the location of said recovery positions (4 and 5) on said support, said analytes present in said sample (E).

(57) Abrégé : Moyen de diagnostic immuno-chromatographique (1) pour la détection et/ou la quantification d'une pluralité d'analytes présents dans un échantillon (E) essentiellement liquide comprenant : - au moins un mélange réactionnel (2) contenant des molécules biologiques de reconnaissance et/ou des ligands compétiteurs marqués avec au moins une molécule de visualisation détectable en fluorescence, ledit mélange réactionnel étant présent dans un contenant distinct dudit système récupérateur (3); et - au moins un système récupérateur (3) sous la forme d'un support solide auquel se trouvent fixés des ligands compétiteurs et/ou des molécules biologiques de reconnaissance en des emplacements de récupération (4 et 5) distincts et connus qui sont disposés selon un arrangement matriciel en deux dimensions défini selon un système de coordonnées, de manière à identifier par la localisation desdits emplacements de récupération (4 et 5) sur ledit support, lesdits analytes présents dans ledit échantillon (E).

**Moyen de diagnostic pour la détection et/ou la quantification d'une pluralité
d'analytes présents dans un échantillon**

Domaine technique

5

La présente invention se rapporte à un moyen de diagnostic immuno-chromatographique pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'une pluralité d'analytes présents dans un échantillon essentiellement liquide comprenant :

- 10
- au moins un mélange réactionnel contenant des molécules biologiques de reconnaissance et/ou des ligands compétiteurs marqués avec au moins une molécule de visualisation ; et
 - au moins un système récupérateur sous la forme d'un support solide auquel se trouvent fixés des ligands compétiteurs et/ou des molécules biologiques de
- 15
- reconnaissance en des emplacements de récupération distincts et connus, de manière à identifier par la localisation desdits emplacements de récupération sur ledit support, lesdits analytes présents dans ledit échantillon.

Arrière-plan technologique

20

De nos jours, l'intérêt pour des moyens de diagnostic permettant la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon est grandissant, et ce particulièrement dans le domaine des produits alimentaires de même que dans le domaine médical.

25

En effet, nous devons continuellement faire face à l'émergence de nouveaux problèmes de santé publique contre lesquels des solutions rapides et efficaces de diagnostic doivent être élaborées en vue de fournir un traitement approprié. Par exemple, chaque année à travers le monde, environ 60 000 intoxications humaines sont liées aux toxines produites par des algues (y compris les cyanotoxines d'eau douce), avec

30

une mortalité totale d'approximativement 1,5 %. Les biotoxines marines (également appelées phycotoxines) sont produites par certaines espèces de phytoplancton et sont susceptibles de s'accumuler dans diverses espèces marines, par exemple dans les

2

poissons, crabes ou bivalves filtreurs (coquillages) tels que moules, huitres, coquilles Saint-Jacques et palourdes. Si l'homme consomme des quantités importantes de coquillages contaminés, il peut être victime d'une grave intoxication. Il est donc crucial de posséder des moyens de diagnostic rapides et efficaces pour détecter ces biotoxines marines, par exemple via une analyse du sang ou des urines.

Des moyens de diagnostic tels que définis plus haut peuvent également être utilisés pour la détection et la quantification de virus responsables de pathologies très diverses. De tels moyens de diagnostic permettraient : (1) d'apporter la preuve de l'origine virale des signes cliniques observés et diagnostiquer le virus en cause (par exemple des hépatites ou l'herpès) et de suivre l'évolution biologique de l'infection (par exemple via la quantification du virus dans le sang : VIH, VHB, VHC) ; (2) de suivre une évolution biologique de l'infection (par exemple le VIH ou l'hépatite B) ; (3) de permettre une décision thérapeutique et juger de l'efficacité des traitements antiviraux (par exemple pour le traitement d'une infection à cytomégalo virus par du ganciclovir) ; (4) de prévenir la transmission d'infections virales à l'occasion du don de sang, d'organes et de tissus ; (5) d'apprécier l'état immunitaire (par exemple dans le cas de la rubéole) ; (6) d'étudier les marqueurs sériques en population (par exemple lors d'enquêtes de prévalence ou d'études épidémiologiques). De manière générale, le diagnostic médical vise une étendue maximale des paramètres à détecter pour mieux cibler le traitement et le type de soin à fournir au patient ce qui limite notamment les effets secondaires souvent mal connus.

Par ailleurs, dans le domaine alimentaire et plus particulièrement dans l'industrie du lait, la surveillance et le contrôle des produits imposent d'effectuer des tests le plus en amont possible de leur fabrication. Idéalement ces tests doivent être réalisés sur le lieu de production des matières premières ou sur leur lieu de leur transformation. Ces tests de dépistages, également appelés tests de « screening » sont particulièrement conçus pour détecter la présence et la quantité de certains analytes dont des contaminants chimiques (par exemple des résidus antibiotiques et des toxines), des protéines (par exemple des allergènes) ou des pathogènes (par exemple des virus, des parasites ou des bactéries). La multiplication des normes sanitaires et la volonté d'une meilleure traçabilité des produits alimentaires imposent une multiplication des analytes à tester ainsi que de connaître le plus précisément possible leurs classes (identifications des familles, classes et du composé distinct) et leurs quantités par rapport aux limites

maximales autorisées dans chaque matrices. Par ailleurs, le lait provenant de nombreux endroits très variés à travers le monde, il est difficile de déterminer précisément les contaminants pouvant être retrouvés dans le lait en fonction du lieu de production, tant les pratiques sont différentes d'un endroit de la planète à l'autre. En effet, l'origine des denrées alimentaires ainsi que les pratiques locales de production associées ne sont pas toujours connues, ce qui oblige à détecter en large spectre de composés, le plus large possible couvrant tout ce qui peut se trouver dans l'échantillon à analyser.

En particulier, le secteur agroalimentaire est intéressé par un moyen de diagnostic permettant d'envisager en une seule opération l'analyse de composés appartenant à des classes différentes pouvant avoir des propriétés physico-chimiques fondamentalement différentes, au sein d'une même famille d'analytes ou non, et présents simultanément dans un échantillon donné. Par exemple, le type et le nombre d'antibiotiques qui peut être administré à des animaux peut varier selon qu'il s'agit d'une application thérapeutique ou prophylactique, selon l'espèce animale, le germe à combattre, les pratiques vétérinaires, la législation en vigueur, les moyens disponibles ou encore les régions géographiques. Dans le cas de certains traitements particuliers, un mélange de médicament peut être utilisé. En règle générale, le praticien utilise seul ou en combinaison des produits antibiotiques choisis parmi tous les composés commercialement disponibles selon son appréciation de la meilleure efficacité.

Les principales classes d'antibactériens et d'antibiotiques sont : les pénicillines et céphalosporines, les tétracyclines, les sulfamides, les aminoglycosides et aminocyclitols, les macrolides, les chloramphénicol ou autres peptides, ionophores, nitrofuranes, quinolones, carbadox, etc., chacune de ces classes regroupant un ensemble très vaste de composés chimiquement différents.

La présence de telles molécules dans les produits laitiers peut avoir un impact négatif majeur sur la rentabilité du procédé industriel impliquant une fermentation (fromage, yoghourt,...) à partir du lait frais.

De plus, l'utilisation, parfois intensive, d'antibiotiques en médecine vétérinaire et en production agricole pourrait être à l'origine de l'émergence de souches bactériennes devenues résistantes aux antibiotiques. Pour préserver la santé humaine et légiférer en la matière, de nombreux pays ont établi des limites maximales autorisées (MRL) pour les résidus antibiotiques dans les denrées alimentaires. Ces MRL fixent la

limite entre un échantillon positif et un échantillon négatif, c'est-à-dire entre un échantillon refusé et un échantillon accepté.

Il est important que les méthodes de dépistage faisant appel à un moyen de diagnostic (1) puissent couvrir la détection simultanée d'un maximum de composés, les tests de dépistage devant donc préférentiellement et logiquement être des tests multi-analytes, (2) permettent de connaître les classes auxquelles appartiennent les composés retrouvés dans un échantillon positif de manière à pouvoir orienter directement vers la méthode de confirmation adéquate, et (3) ne puisse pas donner de résultats de type « faux négatif » car ceux-ci échapperont dès lors à l'analyse et ne seront pas confirmés ultérieurement.

Etat de la technique

Un moyen de diagnostic tel qu'indiqué au début est connu. En effet, le document antérieur EP1712914 divulgue un moyen de diagnostic immunochromatographique pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'une pluralité d'analytes présents dans un échantillon essentiellement liquide comprenant :

- au moins un mélange réactionnel contenant des molécules biologiques de reconnaissance et/ou des ligands compétiteurs marqués avec au moins une molécule de visualisation ; et
- au moins un système récupérateur sous la forme d'un support solide auquel se trouvent fixés des ligands compétiteurs et/ou des molécules biologiques de reconnaissance en des emplacements de récupération distincts et connus, de manière à identifier par la localisation desdits emplacements de récupération sur ledit support, lesdits analytes présents dans ledit échantillon.

Plus précisément, ce document antérieur fournit un moyen de diagnostic permettant de détecter simultanément un ensemble de composés pouvant appartenir à au moins deux classes distinctes d'analytes et de caractériser la classe à laquelle appartient effectivement un composé détecté, et ce en démontrant la compatibilité technique et pratique de réunir en un seul et même procédé au moins deux mécanismes de détection sans que le fonctionnement de l'un d'entre eux ne puisse interférer avec le

fonctionnement de l'autre. En outre, un moyen de diagnostic selon le document EP1712914 démontre la faisabilité technique d'un dosage multi-analytes qui peut s'opérer rapidement, par exemple en moins de 10 minutes, et en une seule et même étape d'analyse au départ d'un seul et même échantillon.

5 Pratiquement, le procédé de mise en œuvre du moyen de diagnostic selon le document EP1712914 est caractérisé par les étapes suivantes :

- mise en contact d'un mélange réactionnel prédéterminé avec un échantillon à caractériser pour obtenir une solution qui est incubée à 50°C pendant 3 minutes ;
- trempage du système récupérateur défini plus haut dans la solution obtenue et incubation pendant 3 minutes ;
- 10 - interprétation quantitative et qualitative du résultat sur le système récupérateur au moyen d'un dispositif de lecture optique.

 Selon ce document antérieur, c'est le positionnement des éléments récupérateurs (des ligands compétiteurs) qui permettra d'identifier le type de contamination. Par exemple, selon exemple du document EP1712914 qui correspond au dosage simultané des tétracyclines, β -lactames et sulfamides, chaque élément récupérateur est disposé sous la forme d'une ligne de capture, chacune d'entre elles étant disposée successivement l'une derrière l'autre en se référant au sens de migration du liquide (correspondant à un mélange réactionnel mis en contact avec un échantillon).

15 Selon une modalité préférée de ce moyen de diagnostic, les zones de captures comprenant les éléments récupérateurs des β -lactames, des tétracyclines et des sulphadiméthoxine sont disposées respectivement à un premier, à un deuxième et à un troisième niveau en se référant au sens de migration du liquide.

 L'interprétation des résultats selon un tel moyen de diagnostic doit se faire de manière inverse et est basé sur le principe de compétition qui exploite la reconnaissance des composés recherchés vis-à-vis d'un ligand compétiteur et/ou d'une molécule biologique de reconnaissance. Plusieurs cas peuvent se présenter quand les éléments récupérateurs fixés sur le système de récupération sont les ligands compétiteurs :

- 30 - soit le composé recherché est présent dans l'échantillon et va alors se lier aux molécules biologiques de reconnaissance présentes dans un mélange réactionnel qui ne seront par conséquent plus libres de se lier aux molécules

6

compétitrices fixées au système récupérateur. Le résultat sera alors positif et présentera un marquage qui est absent ;

- soit le composé recherché est absent de l'échantillon, les molécules biologiques de reconnaissance présentes dans un mélange réactionnel étant donc libres de se lier aux molécules compétitrices fixées au système récupérateur. Le résultat sera alors négatif et présentera un marquage qui est présent.

Malheureusement, un moyen de diagnostic selon le document EP1712914 ne permet la détection et/ou la quantification que d'un nombre limité d'analytes présents dans un échantillon et ne peut donc pas être considérés comme étant réellement un moyen de diagnostic multi-analytes. Plus précisément, le moyen de diagnostic selon le document EP1712914 permet de détecter des composés appartenant à trois classes distinctes d'antibiotiques uniquement, à savoir les β -lactames, les tétracyclines et les sulfamides.

Par conséquent, même si les β -lactames, les tétracyclines et les sulfamides constituent effectivement des classes d'analytes pouvant être considérées comme étant différentes, ce document antérieur permet de détecter uniquement des antibiotiques. Ainsi, un moyen de diagnostic selon ce document antérieur ne permet certainement pas de détecter et/ou de quantifier des analytes, comme les antibactériens, les toxines, les hormones, les pathogènes, les adultérants ou encore les allergènes.

En effet, les secteurs concernés tels que le secteur agroalimentaire et le secteur médical sont demandeurs d'une analyse la plus complète possible et qui puisse de préférence identifier un maximum de composés. Il est plus pratique et plus économique de réaliser un seul test multiple à partir d'un seul échantillon plutôt que de devoir réaliser un test particulier pour chaque composé ou pour un petit groupe seulement de composés, à savoir 2 ou 3 composés maximum tel que c'est le cas avec un moyen de diagnostic selon le document antérieur EP1712914.

Comme décrit plus haut, ce document antérieur comprend un système récupérateur présentant des zones de capture (éléments récupérateurs fixés) sous la forme de lignes disposées les unes derrière les autres et perpendiculairement au sens de migration du liquide, une incompatibilité technique est rencontrée lorsque l'homme de métier tente de disposer un nombre plus élevé de zones de capture simultanément sur le système récupérateur, et ce à cause de (1) la taille restreinte de la zone de tests, (2) la

quantité plus importante de réactifs à déposer sur les lignes successives (favorisant un bruit de fond et des inter-réactivités plus importantes) et (3) un manque de précision lors de l'interprétation des résultats avec une analyse visuelle ou instrumentale qui est longue et complexe. Il devient donc difficile voire impossible de délimiter les différentes zones de capture les unes des autres et donc de distinguer les différents analytes les uns des autres.

La publication de Taranova (Taranova *et al.*, 2013) tente de solutionner les déficiences du document EP1712914 en combinant l'immuno-chromatographie et la technologie du « microarray ». En effet, en vue d'augmenter le nombre d'analytes pouvant être détectés/quantifiés en un seul test, le document de Taranova propose de disposer les emplacements de récupération sur le support solide selon un arrangement matriciel en deux dimensions. De cette façon, le support solide du moyen de diagnostic immuno-chromatographique selon Taranova présente un microarray composé de 32 antigènes (ligands compétiteurs) fixés sous la forme de points (emplacements de récupération). Malheureusement, un moyen de diagnostic selon ce document antérieur permet la détection et la quantification uniquement de quatre analytes, à savoir l'amphétamine, la benzoylecgonine, la méthamphétamine et la morphine, qui sont reconnus comme étant des drogues d'abus. En effet, selon Taranova *et al.*, huit emplacements de récupération sous la forme de points sont prévus sur le support solide pour la détection et la quantification d'un seul analyte. Précisément, pour la détection et/ou la quantification d'un analyte donné, huit points comprenant des antigènes (ligands compétiteurs) spécifiques de cet analyte sont fixés sur le support solide, les huit points permettant d'identifier l'analyte donné étant disposés selon l'axe perpendiculaire au sens de migration du liquide. Par conséquent, selon ce document antérieur, il ne s'agit pas de 32 antigènes différents qui permettent de détecter 32 analytes différents qui sont fixés sur le support solide, mais bien uniquement de quatre antigènes différents reproduits huit fois qui sont spécifiques de quatre analytes différents. Ainsi, l'identification des analytes ne se fait que selon une seule dimension, les huit emplacements de récupération disposés selon l'axe perpendiculaire au sens de migration étant identiques, à savoir qu'ils comprennent des antigènes spécifiques d'un seul analyte. Selon ce document antérieur, l'arrangement des emplacements de récupération sous la forme de points se fait selon des rangées de points, chaque rangée correspondant à un analyte donné, et non selon un réel arrangement matriciel en deux dimensions.

Ainsi, les moyens de diagnostic immuno-chromatographiques de l'état de la technique rencontrent à ce stade une limite importante à l'efficacité qui est caractérisée par l'absence d'un test réellement multi-analytes qui est rapide et pratique et qui permet une détection et/ou une quantification d'analytes qui est :

- 5
- spécifique, c'est-à-dire qui parvient à distinguer des analytes de classes différentes, et
 - universelle, c'est-à-dire qui est applicable pour la plupart des substances utiles à analyser dans les domaines de l'agro-alimentaire et du diagnostic médical telles que les résidus médicamenteux (par exemple les antibiotiques et les
- 10 antibactériens), les toxines, les hormones, les pathogènes, les adultérants ou encore les allergènes .

But de l'invention

15 L'invention a pour but de pallier les inconvénients de l'état de la technique en procurant un moyen de diagnostic plus rapide, plus pratique, plus économique, plus efficace et qui permet une détection et/ou une quantification d'analytes qui est :

- spécifique, c'est-à-dire qui parvient à distinguer des analytes de classes
- 20 différentes, et
- universelle, c'est-à-dire qui est applicable pour la plupart des substances utiles à analyser dans les domaines de l'agro-alimentaire et du diagnostic médical telles que les résidus médicamenteux (par exemple les antibiotiques et les
- 25 antibactériens), les toxines, les hormones, les pathogènes, les adultérants ou encore les allergènes,

la détection et/ou la quantification étant réalisée en une seule étape et en moins de 15 minutes.

Plus particulièrement, un moyen de diagnostic selon l'invention permet la

30 détection et/ou la quantification d'au moins 5 classes différentes d'analytes, de préférence d'au moins 10 classes différentes d'analytes, de préférence d'au moins 15 classes différentes d'analytes présents dans un échantillon, les classes d'analytes étant des résidus médicamenteux (par exemple des antibiotiques ou des antibactériens), des

toxines, des hormones, des pathogènes, des adultérants ou encore des allergènes, et ce en moins de 15 minutes et en une seule étape. Pour résoudre ce problème, il est prévu suivant l'invention un moyen de diagnostic immuno-chromatographique pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'une pluralité d'analytes
5 présents dans un échantillon essentiellement liquide comprenant :

- au moins un mélange réactionnel contenant des molécules biologiques de reconnaissance et/ou des ligands compétiteurs marqués avec au moins une molécule de visualisation ; et
 - au moins un système récupérateur sous la forme d'un support solide auquel se
10 trouvent fixés des ligands compétiteurs et/ou des molécules biologiques de reconnaissance en des emplacements de récupération distincts et connus qui sont disposés selon un arrangement matriciel en deux dimensions, de manière à identifier par la localisation desdits emplacements de récupération sur ledit support, lesdits analytes présents dans ledit échantillon,
- 15 ledit moyen de diagnostic étant caractérisé en ce que,
- a) ledit arrangement matriciel en deux dimensions est défini selon un système de coordonnées présentant une première coordonnée X et une deuxième coordonnée Y , tel que chaque emplacement de récupération fixé sur ledit support solide permet l'identification d'un analyte distinct.
 - 20 b) pour la détection et/ou la quantification d'un analyte donné, un couple de diagnostic constitué d'un ligand compétiteur et d'une molécule biologique de reconnaissance est présent, tel que ladite molécule biologique de reconnaissance se trouve dans ledit mélange réactionnel et ledit ligand compétiteur est fixé en au moins un emplacement de récupération, ou inversement ;
 - 25 c) ladite au moins une molécule de visualisation est une molécule détectable en fluorescence ; et
 - d) ledit mélange réactionnel est présent dans un contenant, ledit contenant étant distinct dudit système récupérateur.

Par le terme « analyte », on entend au sens de la présente invention un
30 composé qui constitue un intérêt à être détecté et/ou quantifié pour fournir un diagnostic, particulièrement dans les domaines agro-alimentaire et médical.

Par les termes « classe d'analytes », on entend au sens de la présente invention un groupement de plusieurs analytes qui présentent des propriétés biologiques et chimiques similaires. A titre d'exemple, les résidus médicamenteux peuvent être séparés en différentes classes telles que les pénicillines, les céphalosporines, les tétracyclines, les sulfamides, les aminoglycosides, les aminocyclitols, les macrolides, les quinolones, les ionophores, les carbadox, les nitrofurannes et les phénicols. Particulièrement, les pénicillines sont des antibiotiques qui ont un mode d'action commun (propriété biologique) et qui présentent une structure chimique similaire (propriété chimique).

10 Par les termes « détection et/ou quantification respectives », on entend au sens de la présente invention une détection et/ou une quantification de tous les analytes d'intérêts en utilisant un seul moyen de diagnostic selon l'invention.

Par les termes « détection et/ou quantification simultanée », on entend au sens de la présente invention une détection et/ou une quantification de tous les analytes d'intérêt après un laps de temps identique.

15 Par les termes « détection et/ou quantification spécifique », on entend au sens de la présente invention une détection et/ou une quantification de tous les analytes d'intérêt de manière distincte, de telle sorte à pouvoir identifier précisément l'analyte qui est détecté et/ou quantifié.

20 Par les termes « couple de diagnostic », on entend au sens de la présente invention deux molécules complémentaires destinées à la détection et/ou la quantification d'un analyte donné, lesdites deux molécules étant une molécule de reconnaissance biologique et un ligand compétiteur. La détection et/ou la quantification de l'analyte donné est basé sur le principe de compétition selon deux situations possibles :

- 25
- soit la molécule biologique de reconnaissance se trouve dans le mélange réactionnel et le ligand compétiteur complémentaire est fixé sur le support solide ;
 - soit le ligand compétiteur se trouve dans le mélange réactionnel et la molécule biologique de reconnaissance complémentaire est fixée sur le support solide.

30 Par les termes « molécules biologiques de reconnaissance », on entend au sens de la présente invention, une molécule naturelle ou synthétique qui est capable de se lier spécifiquement à un analyte d'intérêt.

Par les termes « ligands compétiteurs », on entend au sens de la présente invention une molécule qui est capable de se lier spécifiquement aux molécules biologiques de reconnaissance et qui va donc entrer en compétition avec un analyte d'intérêt pour la liaison aux molécules biologiques de reconnaissance.

5 Par les termes « emplacement de récupération », on entend au sens de la présente invention un emplacement auquel vont être fixés des molécules biologiques de reconnaissance ou des ligands compétiteurs. Dans le cas où des molécules biologiques de reconnaissance sont fixées à un emplacement de récupération, l'analyte d'intérêt (s'il est présent) ou le ligand compétiteur (si l'analyte d'intérêt est absent) va se lier
10 spécifiquement, être capturé et donc arrêter de migrer. Dans le cas où des ligands compétiteurs sont fixés à un emplacement de récupération, les molécules biologiques de reconnaissance spécifiques d'un analyte d'intérêt, vont se lier spécifiquement, être récupérées et donc arrêter de migrer, et ce si l'analyte d'intérêt est absent.

15 Le procédé mis en œuvre pour la détection et/ou la quantification est le suivant :

- mettre en contact le mélange réactionnel avec l'échantillon pour obtenir un liquide ;
- incubé à une température de 30°C pendant 3 minutes ;
- tremper l'extrémité du système récupérateur qui se trouve en amont du sens de
20 migration dans le liquide (comprenant l'échantillon et le mélange réactionnel) ;
- incubé pendant 10 minutes à 30°C ; et
- interpréter qualitativement et/ou quantitativement le résultat sur le système récupérateur au moyen d'un dispositif de lecture optique.

25 Le sens de migration du liquide selon l'invention est défini selon ledit système de coordonnées définissant l'arrangement matriciel des emplacements de récupération fixés sur le système récupérateur selon l'invention et se fait par conséquent selon une coordonnée X et une coordonnée Y.

30 La détection et/ou la quantification selon l'invention est basée sur le principe de compétition qui exploite la reconnaissance des analytes recherchés vis-à-vis d'un ligand compétiteur et/ou d'une molécule biologique de reconnaissance.

Plusieurs cas peuvent se présenter selon que des ligands compétiteurs ou des molécules biologiques de reconnaissance sont fixés aux emplacements de récupération :

- 1) Dans le cas où les éléments récupérateurs sont les ligands compétiteurs,
 - 5 - soit le composé recherché est présent dans l'échantillon et va alors se lier aux molécules biologiques de reconnaissance présentes dans un mélange réactionnel qui ne seront par conséquent plus libres de se lier aux molécules compétitrices fixées au système récupérateur. Le résultat sera alors positif et présentera un marquage qui est absent ;
 - 10 - soit le composé recherché est absent de l'échantillon, les molécules biologiques de reconnaissance présentes dans un mélange réactionnel étant donc libres de se lier aux molécules compétitrices fixées au système récupérateur. Le résultat sera alors négatif et présentera un marquage qui est présent.
- 15 2) Dans le cas où les éléments récupérateurs sont les molécules biologiques de reconnaissance,
 - soit le composé recherché est présent dans l'échantillon et va alors entrer en compétition avec les ligands compétiteurs présents dans un mélange réactionnel pour se lier aux molécules biologiques de reconnaissance
 - 20 fixées au système récupérateur. Le résultat sera alors positif et présentera un marquage qui est absent ou faible ;
 - soit le composé recherché est absent de l'échantillon, les ligands compétiteurs étant alors les seuls se lier aux molécules biologiques de reconnaissance fixées au système récupérateur. Le résultat sera alors
 - 25 négatif et présentera un marquage qui est présent.

Dans le cadre de la présente invention, il a été démontré de manière surprenante qu'un moyen de diagnostic immuno-chromatographique qui comprend les caractéristiques (a), (b) (c) et (d) telles qu'indiquées ci-dessus font que le moyen de diagnostic selon l'invention est plus efficace et est à la fois spécifique et à la fois universel.

30 Précisément, il permet de détecter et/ou de quantifier au moins 5 classes différentes d'analytes, de préférence au moins 10 classes différentes d'analytes, de préférence au moins 15 classes différentes d'analytes présents dans un échantillon, les classes

d'analytes étant des résidus médicamenteux (par exemple des antibiotiques ou des antibactériens), des toxines, des hormones, des pathogènes, des adultérants ou encore des allergènes, et ce en moins de 15 minutes et en une seule étape. Un moyen de diagnostic selon l'invention est par conséquent plus pratique, plus économique et plus efficace que les moyens de diagnostic connus actuellement qui se limitent à la détection et/ou quantification de moins de cinq classes différentes d'analytes.

Précisément, il a été observé de façon surprenante que le placement du mélange réactionnel dans un contenant séparé du support solide apportait plusieurs avantages.

Premièrement, l'interaction du mélange réactionnel avec l'échantillon a analysé étant focalisée dans un contenant séparé, le contrôle de l'interaction du mélange réactionnel avec l'échantillon est optimisé. De la sorte, il est certain que l'échantillon interagit complètement avec le mélange réactionnel avant que le liquide ainsi obtenu (formé du mélange réactionnel et de l'échantillon) ne soit en contact avec le support solide et donc les emplacements de récupération. Par conséquent, la séparation du mélange réactionnel dans un contenant séparé du support solide permet d'éviter l'obtention de faux négatifs. En effet, dans le cas où le mélange réactionnel est fixé sur le support solide en amont des éléments de récupération par rapport au sens de migration comme c'est le cas dans le document de Taranova *et al.*, l'échantillon essentiellement liquide est directement mis en contact avec le mélange réactionnel fixé sur le support solide, ce qui va entraîner la migration immédiate du liquide par capillarité. Le risque est alors élevé que l'échantillon rencontre les emplacements de récupération avant que l'interaction avec le mélange réactionnel ne soit complète entraînant un résultat erroné, c'est-à-dire que l'analyte est effectivement présent dans l'échantillon mais qu'il n'est pas détecté.

Deuxièmement, la séparation du mélange réactionnel dans un contenant permet d'avoir un meilleur contrôle de la quantité d'échantillon qui est analysée. En effet, avec un moyen de diagnostic selon l'invention, il est possible de déposer un volume d'échantillon défini et précis dans le contenant et de s'assurer que la totalité de ce volume d'échantillon va être analysé, et ce contrairement au moyen de diagnostic divulgué par Taranova *et al.*. En effet, avec un tel moyen de diagnostic, c'est-à-dire où le mélange réactionnel est présent sur le support solide en amont des éléments de récupération par

rapport au sens de migration du liquide, l'échantillon est directement mis en contact avec le support solide qui est plongé dans l'échantillon, le liquide obtenu (formé de l'échantillon et du mélange réactionnel) migrant instantanément par capillarité. De cette manière, il est impossible de définir précisément le volume de liquide qui va migrer sur le support solide, ce qui rend très difficile voire impossible de déterminer le volume d'échantillon qui est réellement analysé. Cette caractéristique distinctive du moyen de diagnostic selon l'invention permet de réduire les déviations standards et d'obtenir ainsi une reproductibilité améliorée par rapport aux moyens de diagnostic de l'état de l'art. La détermination précise du volume d'échantillon qui est analysé permet également de définir de manière plus adéquate la composition du mélange réactionnel et surtout de la quantité des différents éléments qui le composent. Par conséquent, la détection ou la quantification d'un analyte donné est significative et fiable même en simplicat, et ce contrairement au document de Taranova. En effet, selon ce document antérieur et comme cité plus haut, huit emplacements de récupération doivent être prévus sur le support solide pour la détection et la quantification d'un seul analyte. Donc, pour la détection et/ou la quantification fiable d'un même nombre d'analytes, par exemple quatre analytes, un support solide selon l'invention doit comprendre 4 emplacements de récupération, alors qu'un support solide selon Taranova *et al.* doit comprendre 32 emplacements de récupération. Par conséquent, pour une même surface de support solide, le moyen de diagnostic selon l'invention permet de détecter et/ou de quantifier 32 analytes différents.

Troisièmement, la séparation du mélange réactionnel dans un contenant permet d'augmenter le nombre de constituants du mélange réactionnel. En effet, comme décrit ci-dessus, pour la détection et/ou la quantification d'un analyte donné, un couple de diagnostic constitué d'un ligand compétiteur et d'une molécule biologique de reconnaissance est présent, tel que la molécule biologique de reconnaissance se trouve dans le mélange réactionnel et le ligand compétiteur est fixé en au moins un emplacement de récupération, ou inversement. Donc, le mélange réactionnel contient une molécule de reconnaissance ou un ligand compétiteur par analyte. Par conséquent, pour détecter et/ou quantifier un grand nombre d'analytes différents, un plus grand nombre de molécules de reconnaissance ou de ligands compétiteurs différents devra être ajouté dans le mélange réactionnel. Avec les moyens de diagnostic de l'état de la

technique, comme divulgué par Taranova *et al.*, le nombre de constituants du mélange réactionnel est limité par la surface disponible sur le support solide.

En outre, selon l'invention, l'arrangement matriciel en deux dimensions est défini selon un système de coordonnées présentant une première coordonnée *X* et une deuxième coordonnée *Y*, tel que chaque emplacement de récupération fixé sur ledit support solide permet l'identification d'un analyte distinct. Cette caractéristique améliore également significativement l'efficacité du moyen de diagnostic selon l'invention en procurant un moyen de diagnostic qui permet de détecter et/ou de quantifier un nombre plus élevé d'analytes distincts pour une surface de support identique, par exemple d'améliorer l'efficacité de huit fois par rapport au moyen de diagnostic selon Taranova *et al.*.

Ainsi, selon l'invention, pour une même coordonnée *X*, plusieurs emplacements de récupération, chacun comprenant des molécules biologiques de reconnaissance ou des ligands compétiteurs différents, sont disposés selon des coordonnées *Y* différentes permettant ainsi de détecter et/ou de quantifier, pour une même coordonnée *X*, plusieurs analytes différents. Inversement, pour une même coordonnée *Y*, plusieurs emplacement de récupérations, chacun comprenant des molécules biologiques de reconnaissance ou des ligands compétiteurs différents, sont disposés selon des coordonnées *X* différentes, permettant ainsi de détecter et/ou de quantifier plusieurs analytes différents.

Par ailleurs, il a été observé de manière surprenante que l'utilisation d'une molécule de visualisation qui est détectable en fluorescence permet d'améliorer la limite de détection du signal, et donc de réduire le risque de faux négatifs en augmentant la sensibilité de la détection et/ou de la quantification. Par conséquent, le seuil de détection étant plus bas, les emplacements de récupération peuvent être plus petits, ce qui permet d'obtenir un support solide qui comprend plus d'emplacements de récupération pour une surface identique. Par ailleurs, la détection du signal par fluorescence étant plus sensible, une quantité plus faible de ligands compétiteurs et/ou de molécules biologiques de reconnaissance doivent être fixés aux emplacements de récupération, ce qui donne un avantage économique non négligeable, mais également un bruit de fond qui est réduit et un risque d'inter-réactions entre les mécanismes de détection et/ou quantification qui est diminué.

En conclusion, un moyen de diagnostic selon l'invention fournit un effet technique supérieur par rapport aux moyens de diagnostic actuels et plus particulièrement par rapport au moyen de diagnostic selon le document de Taranova *et al.*.

5 Ainsi, la présente invention démontre la compatibilité technique et pratique de réunir en un seul et même moyen de détection un nombre élevé (au moins 5, de préférence au moins 10, de préférence au moins 15) de mécanismes de détection et/ou de quantification. Il a par ailleurs été mis en avant, dans le cadre de la présente invention, une faisabilité technique d'un dosage multi-analytes qui peut s'opérer
10 rapidement, en moins de 15 minutes, préférentiellement en 13 minutes, et en une seule et même étape d'analyse à l'aide d'un seul et même échantillon. En effet, le moyen de diagnostic selon l'invention ne requiert ni de lavages ni la réalisation d'une étape distincte de marquage des molécules de reconnaissance et/ou des ligands compétiteurs avec au moins une molécule de visualisation étant donné que, selon l'invention, le mélange
15 réactionnel comprend des molécules de reconnaissance et/ou des ligands compétiteurs couplés à au moins une molécule de visualisation. De préférence, lesdits emplacements de récupération fixés sur ledit système récupérateur dudit moyen de diagnostic selon l'invention sont disposés selon un arrangement matriciel en deux dimensions sous la forme de points présentant chacun un diamètre compris entre 20 μm et 2 mm, de
20 préférence compris entre 100 μm et 500 μm , préférentiellement entre 250 μm et 400 μm .

Il a été démontré que des emplacements de récupération sous forme de points présentant chacun un diamètre compris entre 20 μm et 2 mm, de préférence compris entre 100 μm et 500 μm , préférentiellement entre 250 μm et 400 μm , permettaient de fixer au moins 5, de préférence au moins 10, préférentiellement au
25 moins 15 emplacements de récupération en simplicat, en duplicat ou en triplicat pour la détection et/ou la quantification d'au moins 5, de préférence au moins 10, préférentiellement au moins 15 analytes différents, ainsi qu'au moins un emplacement de récupération déposé en simplicat, en duplicat ou en triplicat destiné au contrôle du seuil de détection permettant de valider le test et/ou à la calibration pour la détection et/ou la
30 quantification, et ce sur un système récupérateur ayant une taille raisonnable, pour la réalisation de la détection et/ou la quantification desdits au moins 15 analytes par un dispositif de lecture optique.

Avantageusement, les emplacements de récupération fixés sur ledit système récupérateur dudit moyen de diagnostic selon l'invention sont disposés selon un arrangement matriciel en deux dimensions sous la forme de points, lesdits points étant présents à une densité comprise entre 62500 et 6,25 points par cm^2 , de préférence comprise entre 2500 et 100 points par cm^2 , préférentiellement comprise entre 400 et 150 points par cm^2 .

De préférence, l'arrangement matriciel de tous les emplacements de récupération est inférieur ou égal à 3 cm^2 , de préférence inférieure ou égale à 2 cm^2 , de préférence inférieure ou égale à 1 cm^2 .

Avantageusement, la première coordonnée X est définie sur un axe longitudinal d'une longueur dudit système récupérateur et la deuxième coordonnées Y est définie sur un axe longitudinal d'une largeur dudit système récupérateur.

Il est raisonnable de prévoir une distance d'espacement minimal entre deux points qui est comprise entre $20 \mu\text{m}$ et 2 mm , de préférence entre $100 \mu\text{m}$ et $500 \mu\text{m}$, préférentiellement entre $250 \mu\text{m}$ et $400 \mu\text{m}$, selon des coordonnées X et Y .

Dans une forme de réalisation particulière, ledit système récupérateur selon l'invention comprend au moins 5, de préférence au moins 10, préférentiellement au moins 15 emplacements de récupération distincts destinés la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'au moins 5, de préférence au moins 10, préférentiellement au moins 15 analytes distincts présents dans un échantillon, et au moins un emplacement de récupération destiné à un contrôle et/ou un calibrateur.

De préférence, ledit contrôle et/ou ledit calibrateur est obtenu à partir d'un couple ligand compétiteur/molécule de reconnaissance indépendant, dont la nature intrinsèque (ou synthétique) fait que la molécule contrôle n'est jamais présente dans l'échantillon (par exemple un anticorps spécifique d'une protéine d'une autre espèce animale différente de celle dont provient l'échantillon) ou une protéine porteuse (par exemple la sérumalbumine bovine) modifiée chimiquement avec un marqueur synthétique (par exemple une biotine ou un marqueur poly-histidines ou c-myc).

Dans une forme de réalisation particulièrement avantageuse du moyen de diagnostic selon l'invention, chacun desdits emplacements de récupération est disposé sur ledit système récupérateur en duplicat, de préférence en triplicat. La réalisation de

duplicats ou de triplicats permet d'améliorer encore les statistiques et la précision des résultats obtenus.

De préférence, l'arrangement matriciel des emplacements de récupération auxquels sont fixés des ligands compétiteurs ou les molécules de reconnaissance est déterminé par le sens de migration du liquide, de telle sorte qu'un emplacement de récupération auquel sont fixés des ligands compétiteurs ou des molécules biologiques de reconnaissance destinés à la détection et/ou la quantification d'un premier analyte donné est localisé en amont d'un emplacement de récupération auquel sont fixés des ligands compétiteurs ou des molécules biologiques de reconnaissance destinés à la détection et/ou la quantification d'un second analyte donné, et ce par rapport au sens de migration du liquide. Un tel arrangement matriciel permet encore de diminuer le risque d'inter-réactions entre les différents mécanismes de détection et/ou de quantification des analytes d'intérêt.

Avantageusement, ledit système récupérateur sous la forme d'un support solide comprend une membrane ou un ensemble de membranes. De préférence, la membrane est une membrane de nitrocellulose.

Avantageusement, ledit contenant est un contenant en verre ou en plastique.

Avantageusement, lesdites molécules biologiques de reconnaissance sont des anticorps, de préférence des anticorps primaires, soit monoclonaux ou polyclonaux, purifiés ou non purifiés, et/ou des aptamères et/ou des GEPIs et/ou des récepteurs biologiques.

Avantageusement, lesdits ligands compétiteurs sont des analogues des analytes recherchés et/ou des molécules capables de fixer spécifiquement lesdites molécules biologiques de reconnaissance.

Dans une forme de réalisation particulièrement avantageuse du moyen de diagnostic selon l'invention, lesdits ligands compétiteurs sont choisis dans le groupe constitué de substances médicamenteuses de type antibiotiques, d'hormones, de toxines telle que l'Aflatoxine, de virus de type virus de Dengue, de bactéries de type L. monocytogenes, de métaux lourds, d'adultérants, d'allergènes, et de leurs mélanges.

De préférence, ladite au moins une molécule de visualisation est fusionnée auxdites molécules biologiques de reconnaissance et/ou auxdits ligands compétiteurs via un couplage chimique et/ou génétique.

5 Par les termes « couplage chimique et/ou génétique », il est entendu au sens de la présente invention, une liaison de la molécule de reconnaissance et/ou du ligand compétiteur à la molécule de visualisation via une modification chimique et/ou génétique de la molécule biologique de reconnaissance et/ou du ligand compétiteur, ceux-ci n'étant par conséquent plus dans leur état naturel mais sous forme modifiée ou sous forme de complexes.

10 Il a été démontré qu'un tel couplage chimique et/ou génétique de la molécule de visualisation aux molécules biologiques de reconnaissance et/ou aux ligands compétiteurs présents dans le mélange réactionnel permet d'améliorer encore la compatibilité technique et pratique de réunir en un seul et même moyen de détection et/ou de quantification un nombre élevé (au moins 5, de préférence au moins 10, 15 préférentiellement au moins 15) de mécanismes de détection et/ou de quantification sans que le fonctionnement de l'un d'entre eux ne puisse interférer avec le fonctionnement d'un des autres mécanismes. En effet, un mélange réactionnel selon l'invention qui présente un tel couplage offre l'avantage de diminuer voir d'éliminer le risque d'aspécificité et d'inter-réactions entre les différentes molécules biologiques de reconnaissance et/ou les différents ligands compétiteurs présents dans le mélange 20 réactionnel, et ainsi le risque d'observer des faux positifs et/ou des faux négatifs, mais également de diminuer considérablement le marquage résiduel (bruit de fond) observé sur le système récupérateur quand un tel couplage n'est pas présent et d'obtenir ainsi un meilleur contraste entre le marquage des éléments récupérateurs et du support solide 25 non fixé (et d'obtenir ainsi un meilleur seuil de détection).

Le document antérieur EP1712914 préconise, au contraire, qu'aucun marquage par modification chimique n'ait lieu afin de préserver au maximum les fonctionnalités des récepteurs et anticorps utilisés, et que par conséquent, les molécules biologiques de reconnaissance sont exploitées dans leur état le plus naturel possible. Par 30 exemple, une molécule biologique de reconnaissance comme un récepteur est marqué à l'aide d'un anticorps eux-mêmes reconnus par une protéine-A (reconnaissant tous les types d'anticorps de manière générale) qui est conjuguée à de l'or colloïdal. Selon ce

document antérieur, c'est donc la protéine-A, et non la molécule biologique de reconnaissance, qui est couplée à l'or colloïdal (la molécule de visualisation).

Avantageusement, ledit couplage chimique et/ou génétique est réalisé via au moins une force électrostatique, au moins un lien peptidique, au moins un gène rapporteur, ou une combinaison de ceux-ci.

Dans une forme de réalisation particulière, ladite au moins une molécule de visualisation est choisie dans le groupe constitué de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC), la phycoérythrine (PE), la rhodamine B et de leurs mélanges.

De préférence, lesdits analytes sont sélectionnés dans le groupe constitué des résidus médicamenteux, des toxines, des virus, des bactéries, des hormones, des métaux lourds, des adultérants, des allergènes et de leurs mélanges. Parmi les résidus médicamenteux, on retrouve notamment les antibiotiques et les antibactériens. Des molécules chimiques indésirables, les adultérants, peuvent également être détectées suite à une contamination passive par transfert du contenant (par exemple depuis un emballage en plastique).

Dans une forme de réalisation particulièrement avantageuse, lesdits analytes sont des résidus médicamenteux et sont choisis dans le groupe constitué des pénicillines, des céphalosporines, des tétracyclines, des sulfamides, des aminoglycosides, des aminocyclitols, des macrolides, des quinolones, des ionophores, des carbadox, des nitrofurannes, des phénicols, et de leurs mélanges.

Avantageusement, ledit échantillon est obtenu à partir de lait, de miel, de viande, d'œufs, de sang complet, de sérum, d'urine, ou d'autres liquides biologiques.

Par les termes « liquides biologiques », on entend au sens de la présente invention tout liquide organique ou fluide corporel produit par un organisme vivant.

De préférence, ledit échantillon est obtenu à partir de lait. Il a été observé que la détection des analytes est plus sensible lorsque l'échantillon analysé est obtenu à partir de lait, et ce car les composants du lait sature la membrane de nitrocellulose et diminue ainsi le bruit de fond.

Particulièrement, selon l'invention, la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'une pluralité d'analytes présents dans un échantillon est réalisée au moyen d'un dispositif de lecture optique.

Dans une forme particulière selon l'invention, les emplacements de récupération sont disposés selon un arrangement matriciel en trois dimensions. Un tel arrangement matriciel en trois dimensions permet de disposés entre un plus grand nombre d'emplacement de récupération sur un support solide présentant une surface
5 similaire et donc de détecter et/ou de quantifier un plus grand nombre d'analyte d'intérêt respectivement et simultanément.

Avantageusement, l'arrangement matriciel en trois dimensions est défini selon un système de coordonnées présentant une première coordonnée (X) définie sur un axe longitudinal d'une longueur dudit système récupérateur, une deuxième coordonnée
10 (Y) définie sur un axe longitudinal d'une largeur dudit système récupérateur et une troisième coordonnée (Z) définie sur un axe longitudinal d'une profondeur dudit système récupérateur. Dans ce cas, le sens de migration du liquide (comprenant l'échantillon et le mélange réactionnel) est défini selon ledit système de coordonnées définissant
15 l'arrangement matriciel des emplacements de récupération fixés sur le système récupérateur selon l'invention et se fait par conséquent selon une coordonnée X, une coordonnée Y et une coordonnée Z.

D'autres formes de réalisation du moyen de diagnostic suivant l'invention sont indiquées dans les revendications annexées.

L'invention porte également sur un procédé pour la détection et/ou la
20 quantification respective, simultanée et spécifique d'une pluralité d'analytes présents dans un échantillon essentiellement liquide comprenant les étapes suivantes :

- mettre en contact un mélange réactionnel d'un moyen d'un diagnostic selon l'invention avec l'échantillon pour obtenir un liquide ;
- incubé à une température comprise entre 0 et 70°C, de préférence entre 10 et
25 60°C, de préférence entre 20 et 50°C, de préférence entre 20 et 40°C, de préférence entre 25 et 35°C, de préférence de 30°C, pendant une durée inférieure ou égale à 15 minutes, préférentiellement inférieure ou égale à 10 minutes, préférentiellement inférieure ou égale à 5 minutes, préférentiellement inférieure ou égale à 3 minutes, préférentiellement égale à 3 minutes ;
- 30 - tremper une extrémité d'un système récupérateur d'un moyen de diagnostic selon l'invention dans le liquide ;

- incuber à une température comprise entre 0 et 70°C, de préférence entre 10 et 60°C, de préférence entre 20 et 50°C, de préférence entre 20 et 40°C, de préférence entre 25 et 35°C, de préférence de 30°C, pendant une durée inférieure ou égale à 15 minutes, préférentiellement inférieure ou égale à 10 minutes, préférentiellement égale à 10 minutes ; et
- interpréter qualitativement et/ou quantitativement le résultat sur le système récupérateur au moyen d'un dispositif optique.

Le procédé selon l'invention est basé sur les technologies de la microfluidique et de l'immuno-chromatographie.

L'invention a aussi pour objet un ensemble de diagnostic pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon comprenant un moyen de diagnostic selon l'invention, et comprend en outre un dispositif de lecture optique d'un support solide amovible comprenant :

- un emplacement pour recevoir ledit support solide ;
- une unité optique pour analyser ledit support solide et comprenant :
 - o une première source lumineuse pour émettre selon une intensité d'émission et dans une première plage de longueur d'onde un premier faisceau lumineux vers ledit emplacement ;
 - o un système d'imagerie comprenant un détecteur optique pour fournir une image d'une zone de visualisation, ladite zone de visualisation comprenant au moins une portion dudit emplacement ;
 - o un filtre pour filtrer une plage de longueur d'onde définie, et positionné entre l'emplacement et ledit système d'imagerie ;
- des moyens de communications pour obtenir une information relative à un support solide ;
- des moyens de sélection pour :
 - o sélectionner à partir d'une liste d'analytes prédéfinis correspondant auxdits emplacements de récupération fixés sur le support solide, une sélection d'analytes à détecter et/ou à quantifier pour ledit échantillon à partir d'un même support solide ;
- des moyens de traitement d'image de ladite image pour :

- déterminer, à partir de l'information relative audit support solide à lire, un nombre fini de sous-ensembles de ladite image, chaque sous-ensemble correspondant à un analyte ;
 - fournir des données relatives à des intensités lumineuses issues desdits sous-ensembles;
- 5
- des moyens de détermination pour :
 - calculer, pour chaque sous-ensemble correspondant à un analyte sélectionné dans ladite sélection d'analytes une intensité de sous-ensemble ;
 - 10 ○ déterminer sur la base de ladite intensité de sous-ensemble des informations d'analytes dudit échantillon pour chaque sous-ensemble correspondant à un analyte sélectionné dans ladite sélection d'analytes ;
 - des moyens de transmission configurés pour transmettre ladite information d'analytes dudit échantillon analysé pour chaque sous-ensemble correspondant à
 - 15 un analyte sélectionné dans ladite sélection d'analytes.

Un tel dispositif selon l'invention permet la lecture des zones à tester, en particulier avec une mesure instantanée de fluorescence ou de façon préférée avec une mesure de la lumière réfléchie des zones à tester. Afin de permettre une sélection des analytes à tester correspondant à des zones d'intérêts sur une tigette, un tel dispositif propose grâce à l'accès à une méthode contenant des informations relatives à une tigette, une sélection à partir d'une liste d'analytes à tester. Il est en effet intéressant d'effectuer une sélection des analytes à tester avant d'en obtenir les résultats afin de bien cibler les analytes dont il est nécessaire de connaître les résultats d'un test afin de ne pas exposer un utilisateur à une trop grande quantité de résultats. Donner accès à une trop grande

20 quantité de résultats à un utilisateur n'en ayant pas nécessairement le besoin l'expose au risque d'une perte d'objectivité par rapport à son intention d'analyse initiale. Ainsi, un tel dispositif de l'invention, grâce à des moyens de sélection, permet un choix des analytes à tester par l'utilisateur avant d'effectuer la lecture de la tigette. Les moyens de sélection, en communication avec les moyens de traitement d'image permettent aux moyens de

25 traitement d'image, une détermination des informations des analytes sélectionnés

30 uniquement.

Un avantage d'utiliser le lecteur optique de l'invention pour réaliser un diagnostic concernant une sélection d'analytes d'intérêt est qu'il ne nécessite ni une première sélection de différents types de bandelettes à tester, ni la mise en contact de chacune de ces bandelettes avec le produit à tester puis leur positionnement dans le lecteur optique. Tout cela permet d'éviter une manipulation importante des bandelettes à tester, coûteuse en temps et en gestion des stocks. Cela permet également une analyse plus simple, plus rapide et plus ciblée des analytes à tester, en disposant uniquement des résultats sélectionnés à l'issue de la lecture de la bandelette par le lecteur optique de l'invention.

10 Avantageusement, la sélection d'analytes est une sélection de plusieurs analytes.

De préférence, le dispositif optique comprend en outre :

- des moyens permettant de lire un profil de sélection ; et

15 lesdits moyens de sélection sont configurés pour réaliser ladite sélection d'analytes sur la base dudit profil de sélection.

De manière avantageuse, chaque sous-ensemble dudit nombre fini de sous-ensembles de ladite image déterminé par les moyens de traitement d'image correspond à ladite sélection d'analytes, de préférence à chaque analyte sélectionné.

20 Préférentiellement, lesdits moyens de traitement d'image sont configurés pour déterminer en outre ledit nombre fini de sous-ensembles de ladite image à partir dudit profil de sélection.

25 Avantageusement, ladite première source lumineuse est configurée pour émettre directement ledit premier faisceau lumineux directement vers ledit emplacement, de préférence directement vers lesdits emplacements de récupération fixés sur le support solide.

De préférence, ledit support solide comprend des emplacements de récupération sous forme de points présentant chacun un diamètre compris entre 20 μm et 2 mm, de préférence compris entre 100 μm et 500 μm , préférentiellement entre 250 μm et 400 μm .

30 L'invention porte également sur un ensemble de diagnostic pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents

dans un échantillon comprenant un moyen de diagnostic selon l'invention et comprend en outre un dispositif de lecture optique d'un support solide amovible comprenant :

- un emplacement pour recevoir ledit support solide ;
- une unité optique pour analyser ledit support solide et comprenant :
 - 5 ○ une première source lumineuse pour émettre selon une intensité d'émission et dans une première plage de longueur d'onde un premier faisceau lumineux vers ledit emplacement ;
 - un capteur d'intensité lumineuse pour mesurer l'intensité d'émission émise par ladite première source lumineuse ;
 - 10 ○ un moyen de rétrocontrôle pour moduler ladite intensité d'émission de ladite première source lumineuse en fonction de l'intensité d'émission mesurée par ledit capteur d'intensité lumineuse de sorte que ladite première source lumineuse émette une intensité cible ;
 - un système d'imagerie comprenant un détecteur optique pour fournir
 - 15 une image d'une zone de visualisation, ladite zone de visualisation comprenant au moins une portion dudit emplacement ;
 - un filtre pour filtrer une plage de longueur d'onde définie, et positionné entre l'emplacement et ledit système d'imagerie ;
 - des moyens de traitement d'image de ladite image pour :
 - 20 ○ déterminer un nombre fini de sous-ensembles de ladite image,
 - fournir des données relatives à des intensités lumineuses issues desdits sous-ensembles ;
 - des moyens de détermination pour :
 - calculer, pour chaque sous-ensemble, une intensité de sous-ensemble, et
 - 25 - des moyens de transmission pour transmettre une information relative à ladite intensité de sous-ensemble pour chaque sous-ensemble.

Un tel dispositif optique selon l'invention permet la lecture des zones à tester, en particulier avec une mesure instantanée de fluorescence ou de façon préférée avec une mesure de la lumière réfléchie des zones à tester. Lorsqu'une technique de fluorescence ou une technique en lumière réfléchie est utilisée pour lire les zones à tester (ou points), un moyen de rétrocontrôle permet de garantir une intensité lumineuse d'excitation toujours égale, ce qui permet une mesure instantanée de fluorescence ou de

réflexion fiable, quelle que soit la température, la source d'énergie utilisée ou encore la durée d'utilisation et le vieillissement de la source lumineuse. L'utilisation du moyen de rétrocontrôle permet de garantir une source d'énergie lumineuse ayant une intensité constante dans le temps et prédéfinie. Une source d'énergie lumineuse ayant une intensité prédéfinie permet notamment de garantir des résultats quantitatifs fiables. Le moyen de rétrocontrôle est de préférence un moyen de rétrocontrôle électronique. Par exemple le capteur d'intensité lumineuse est une photodiode.

L'invention a également pour objet un ensemble de diagnostic pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon comprenant un moyen de diagnostic selon l'invention et comprend en outre un dispositif de lecture optique d'un support solide amovible comprenant :

- un emplacement pour recevoir ledit support solide ;
- une unité optique pour analyser ledit support solide et comprenant :
 - o une première source lumineuse pour émettre selon une intensité d'émission et dans une première plage de longueur d'onde un premier faisceau lumineux vers ledit emplacement ;
 - o un système d'imagerie comprenant un détecteur optique à deux dimensions pour fournir une image à deux dimensions d'une zone de visualisation, ladite zone de visualisation comprenant au moins une portion dudit emplacement ;
 - o un filtre pour filtrer une plage de longueur d'onde définie, et positionné entre l'emplacement et ledit système d'imagerie ;
- des moyens de traitement d'image de ladite image à deux dimensions pour :
 - o détecter des zones de références de ladite image à deux dimensions,
 - o déterminer un nombre fini de sous-ensembles de ladite image à deux dimensions,
 - o positionner dans ladite image à deux dimensions chaque sous-ensemble à une position prédéterminée par rapport auxdites zones de référence,
 - o fournir des données relatives à des intensités lumineuses issues desdits sous-ensembles ;
- des moyens de détermination pour :
 - o calculer, pour chaque sous-ensemble, une intensité de sous-ensemble, et

- des moyens de transmission configurés pour transmettre ladite intensité de sous-ensemble pour chaque sous-ensemble.

Un tel dispositif optique selon l'invention permet la lecture simultanée d'un grand nombre de dots grâce à un détecteur optique à deux dimensions et à des
5 moyens de traitement d'image et de détermination permettant de lire des informations d'analytes pour chacun des dots. L'image à deux dimensions comprend des sous-ensembles, des portions, des régions d'intérêt, des zones d'intérêt ou encore des parties d'images. Préférentiellement, les sous-ensembles d'une image à deux dimensions comprennent une pluralité de pixels. De préférence, chaque sous-ensemble comprend au
10 moins 20 pixels, de préférence plus de 50 pixels et de manière encore plus préférée plus de 200 pixels.

L'avantage d'un tel dispositif selon l'invention est de pouvoir réaliser un diagnostic par une lecture de fluorescence en continu en s'affranchissant un maximum du bruit de fond engendré par la source lumineuse.

15 Un autre avantage d'un tel dispositif de lecture optique de l'invention est de permettre la lecture optique d'un grand nombre de régions d'intérêt présents sur une seule et même tigelette. Dans le cas d'un tel dispositif optique de l'invention, la lecture d'un grand nombre de régions d'intérêt ne nécessite pas de prévoir des emplacements pour plusieurs tigelettes. L'emploi de plusieurs tigelettes dans un même lecteur optique pour une
20 lecture simultanée de plusieurs tigelettes afin de couvrir un grand nombre de régions d'intérêt avec un même capteur optique étant source de mauvais placement et de décalage des régions d'intérêt d'une mesure à une autre et ce pour chacune des tigelettes introduites dans le lecteur optique.

L'invention porte également sur un ensemble de diagnostic pour la
25 détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon comprenant un moyen de diagnostic selon l'invention et comprenant en outre un dispositif de lecture optique d'un support solide amovible comprenant :

- un emplacement pour recevoir ledit support solide ;
- un dispositif d'identification pour identifier un support solide à lire ;
- 30 - des moyens de communication pour accéder à une base de données de méthodes relatives audit support solide à lire pour obtenir une information relative à un supporte solide ;

- une unité optique, pour analyser ledit support solide sur la base de paramètres d'analyse compris dans ladite information relative à un support solide et comprenant :
 - 5 ○ une première source lumineuse pour émettre selon une intensité d'émission et dans une première plage de longueur d'onde un premier faisceau lumineux vers ledit emplacement ;
 - un système d'imagerie comprenant un détecteur optique pour fournir une image d'une zone de visualisation, ladite zone de visualisation comprenant au moins une portion dudit emplacement ;
 - 10 ○ un filtre pour filtrer une plage de longueur d'onde définie, et positionné entre l'emplacement et ledit système d'imagerie ;
- des moyens de traitement d'image de ladite image pour :
 - lire dans l'information relative audit support solide à lire, une information relative à un nombre fini de sous-ensembles de ladite image ;
 - 15 ○ fournir des données relatives à des intensités lumineuses issues desdits sous-ensembles ;
- des moyens de détermination pour :
 - calculer, pour chaque sous-ensemble, une intensité de sous-ensemble, et
 - déterminer sur la base de ladite intensité de sous-ensemble et sur la base
 - 20 de l'information relative audit support solide à lire, des informations d'analyse pour chaque sous-ensemble ;
- des moyens de transmission configurés pour transmettre ladite information d'analyse pour chaque sous-ensemble.

25 Le dispositif de lecture optique selon l'invention permet une lecture optique d'une tige pour l'analyse d'un échantillon avec un choix de méthode de lecture automatisé. La méthode de lecture comprenant de préférence des données relatives a : une version de méthode, un numéro de lot, une date limite d'utilisation d'un lot, le type de source lumineuse utilisée, le type de zone d'intérêt (ligne ou point), méthode pour analyse qualitative (binaire) ou quantitative, des paramètres d'acquisition d'image (temps

30 d'exposition, gain,...), les positions par rapport à des points de référence (par exemple selon des coordonnées cartésiennes), un nombre de zones d'intérêt, un nombre de réplica par analyte, l'organisation matricielle des zones d'intérêt sur le support solide

mobile, la dimensions des zones d'intérêt (par exemple, un rayon), une dimension relative à une zone autour d'une zone d'intérêt à considérer pour la prise en compte du background, des paramètres de calibration du type interpolation de données ou permettant une analyse quantitative d'un échantillon et enfin la désignation des zones d'intérêt en fonction de l'analyte qu'elles permettent de détecter et/ou de quantifier.

5 D'autres formes de réalisation de l'ensemble de diagnostic suivant l'invention sont indiquées dans les revendications annexées.

L'invention a aussi pour objet une utilisation d'un moyen de diagnostic selon l'invention pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon, de préférence d'au moins 5, de préférence d'au moins 10, préférentiellement d'au moins 15 analytes différents.

L'invention a aussi pour objet une utilisation d'un ensemble de diagnostic selon l'invention, pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon, de préférence d'au moins 5, de préférence d'au moins 10, préférentiellement d'au moins 15 analytes différents.

D'autres formes d'utilisations du moyen de diagnostic et de l'ensemble de diagnostic suivant l'invention sont indiquées dans les revendications annexées.

D'autres caractéristiques, détails et avantages de l'invention ressortiront de la description donnée ci-après, à titre non limitatif et en faisant référence aux dessins annexés.

Description des figures

La figure 1a est une vue schématique d'un moyen de diagnostic selon le document antérieur EP1712914.

La figure 1b est une vue schématique d'un moyen de diagnostic selon le document de Taranova *et al.*.

La figure 2 est une vue schématique d'un moyen de diagnostic selon l'invention.

La figure 3 est une vue schématique illustrant en détail un système récupérateur selon l'invention.

Sur les figures, les éléments identiques ou analogues portent les mêmes références.

La figure 1a représente un moyen de diagnostic 1 selon le document antérieur EP1712914 et illustre le positionnement des éléments récupérateurs 4₁, 4₂, 4₃ et 5 sur un système récupérateur 3 sous la forme d'un support solide de nitrocellulose dans le cas du dosage simultané de β -lactames 4₁, de tétracyclines 4₂ et de sulphadiméthoxine 4₃, une zone de contrôle fixe 5 étant également prévue, par rapport à un sens de migration M. Selon ce document antérieur, le mélange réactionnel 2 est prévu dans un récipient distinct avec lequel un échantillon E à tester est mis en contact.

La figure 1b représente un moyen de diagnostic 1 selon le document de Taranova *et al.* et illustre le positionnement des éléments récupérateurs 4_{1a}, 4_{1b}, 4_{1c}, 4_{1d}, 4_{1e}, 4_{1f}, 4_{1g}, 4_{1h}, 4_{2a}, 4_{2b}, 4_{2c}, 4_{2d}, 4_{2e}, 4_{2f}, 4_{2g}, 4_{2h}, 4_{3a}, 4_{3b}, 4_{3c}, 4_{3d}, 4_{3e}, 4_{3f}, 4_{3g}, 4_{3h}, 4_{4a}, 4_{4b}, 4_{4c}, 4_{4d}, 4_{4e}, 4_{4f}, 4_{4g}, 4_{4h}, sur un système récupérateur 3 sous la forme d'un support solide de nitrocellulose dans le cas du dosage simultané d'amphétamines (4_{1a}, 4_{1b}, 4_{1c}, 4_{1d}, 4_{1e}, 4_{1f}, 4_{1g}, 4_{1h}), de benzoylécgonine (4_{2a}, 4_{2b}, 4_{2c}, 4_{2d}, 4_{2e}, 4_{2f}, 4_{2g}, 4_{2h}), de méthamphétamines (4_{3a}, 4_{3b}, 4_{3c}, 4_{3d}, 4_{3e}, 4_{3f}, 4_{3g}, 4_{3h}) et de morphine (4_{4a}, 4_{4b}, 4_{4c}, 4_{4d}, 4_{4e}, 4_{4f}, 4_{4g}, 4_{4h}). Les éléments récupérateurs 4 sont fixés sous la forme de points selon un arrangement matriciel en deux dimensions. Selon Taranova *et al.*, le mélange réactionnel 2 est présent sur ledit système récupérateur 3, sous une forme lyophilisée, en amont desdits éléments de récupération 4 fixés sur ledit système récupérateur 3 par rapport à un sens de migration M d'un liquide comprenant l'échantillon E à tester sur le mélange réactionnel 2. Selon ce document antérieur, les éléments de récupérations disposés sur une même rangée, à savoir ayant la même coordonnée Y, sont spécifiques du même analyte.

La figure 2 représente un moyen de diagnostic 1 selon l'invention et illustre le positionnement des éléments récupérateurs 4 et 5 sur un système récupérateur 3 sous la forme d'un support solide par rapport à un sens de migration M, les éléments récupérateurs 4 et 5 étant fixés sous la forme de points selon un arrangement matriciel en deux dimensions. Selon l'invention, le mélange réactionnel 2 est prévu dans un récipient distinct avec lequel un échantillon E à tester est mis en contact pour obtenir un liquide, avant de tremper le système récupérateur 3 dans le liquide obtenu.

La figure 3 illustre en détail le système récupérateur 3 selon l'invention sur lequel les emplacements de récupération 4 et 5 sont disposés selon un arrangement matriciel en deux dimensions sous la forme de points ayant un diamètre défini, chacun des points étant séparés par une distance minimale. L'arrangement matriciel en deux dimensions est défini selon un système de coordonnées (X ; Y) qui présente une première coordonnée X définie sur un axe longitudinal (A_l) d'une longueur (L) dudit système récupérateur 3 et une deuxième coordonnées Y définie sur un axe longitudinal (A_l) d'une largeur (l) dudit système récupérateur 3. Selon un mode de réalisation préféré, le système récupérateur 3 comprend au moins 12 emplacements de récupération distincts (4₁ – 4₁₂) destinés la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'au moins 12 analytes de classes distinctes présents dans un échantillon E et au moins trois emplacements de récupération 5 destinés à un contrôle du seuil de détection ou servant de calibrateur. En outre, chacun des emplacements de récupération (4₁ – 4₁₂ et 5₁-5₃) est disposé en duplicat (4_{1A} ; 4_{1B} – 4_{12A} ; 4_{12B}).

Il est bien entendu que la présente invention n'est en aucune façon limitée aux formes de réalisations décrites ci-dessus et que bien des modifications peuvent y être apportées sans sortir du cadre des revendications annexées.

Modes de réalisation selon l'invention - Exemples

Exemple 1 : Exemple de composition d'un tampon pour le mélange réactionnel et exemple d'un procédé de préparation du mélange réactionnel

Tableau 1 :

Sels et additifs	Concentration finale (nM)
TRIS	20-25
HEPES	3-10
NaCl	4-8
MgCl ₂	0-2
Sucre	50-100
BSA	0-1
Glycerol	10-30
Tween	0-1

A ce tampon sont ajoutées les molécules de reconnaissance et/ou les ligands compétiteurs. Après l'incubation du mélange durant une nuit à 4°C, celui-ci est

lyophilisé. Lors de la réalisation de l'essai, 250 µl d'échantillon à tester seront ajoutés au mélange réactionnel ainsi obtenu.

Exemple 2 : Exemple de couplage des molécules de reconnaissance au fluorophore rhodamine B

5 Les récepteurs « Beta » et « Tetra » et les oligonucléotides ADN sont obtenus suivant le procédé décrit dans EP1712914A1.

Les anticorps monoclonaux sont purifiés sur colonne de protéine-A ou protéine-G en fonction de l'espèce et de l'isotype. Les anticorps sont ensuite stockés à -20°C dans du tampon phosphate 10mM NaCl 140mM pH7,4.

10 La rhodamine B utilisée possède un résidu N-hydroxysuccinimidyl(NHS)-esters qui a la particularité de réagir avec les groupements amines des protéines à pH basique.

Les molécules de reconnaissance (anticorps, et/ou récepteurs) sont dialysés une nuit dans un tampon carbonate 50mM pH 8,5.

15 Le fluorophore est dissout dans du DMF à du 5mg/ml.

La molécule de reconnaissance et le fluorophore (la molécule de visualisation) sont mis en présence dans un rapport molaire d'environ 1/4 pendant une heure à l'abri de la lumière.

20 Enfin, la réaction chimique est stoppée lors de la dialyse de complexe avec un tampon phosphate 10mM pH 7,4.

D'autres types de liaison chimiques peuvent être réalisées, avec des fluorochromes possédant un groupement maléimide ou carboxyle.

D'autres types de fluorophores peuvent être utilisés, tels que le FITC, Alexa, DyLight, ...

25 Le couplage des molécules de reconnaissance peut aussi être réalisé avec des nanoparticules colorimétriques (nanoparticules d'or, latex, carbone...), aussi bien par couplage covalent que par adsorption électrostatique.

30 Exemple 3 : Exemple de composition du mélange réactionnel et exemple d'éléments récupérateurs fixés sur le système récupérateur

Tableau 2 :

Canaux	Molécules du mélange réactionnel	Ligands fixés sur le système récupérateur	Classe	Famille	Analytes détectés
CTL1	Anticorps 1 contrôle	Antigène 1 contrôle	contrôle	contrôle	/
BETA	Récepteur beta	βlactames	βlactames	antibiotiques	27
CEFA	Anticorps monoclonal anti-cefalexine	cefalexine	βlactames	antibiotiques	2
TETRA	Récepteur tetra	oligonucléotides ADN	tétracyclines	antibiotiques	10
SULFA	Anticorps anti-sulfonamides	sulfonamides	sulfonamides	antibiotiques	20
SDX	Anticorps anti-sulfadoxine	sulfadoxine	sulfonamides	antibiotiques	1
QUINO	Anticorps anti-fluoroquinolones	fluoroquinolones	fluoroquinolones	antibactériens	20
CAP	Anticorps anti-chloramphenicol	chloramphenicol	phénicoles	antibiotiques	1
MELA	Anticorps anti-mélamine	mélamine	mélamine	adultérant	4
AFLA	Anticorps anti-aflatoxineM1	aflatoxineM1	mycotoxines	toxines	2
CTL2	Anticorps 2 contrôle	Antigène 2 contrôle	contrôle	contrôle	/
COLI	Anticorps anti-colistine	colistine	polymyxines	antibiotiques	1
NEO	Anticorps anti-néomycine	néomycine	aminoglycosides	antibiotiques	2
GEN1	Anticorps anti-gentamicine	gentamicine	aminoglycosides	antibiotiques	2
STR	Anticorps anti-streptomycine	streptomycine	aminoglycosides	antibiotiques	2
TYLO	Anticorps anti-tylosine	tylosine	macrolides	antibiotiques	2
LINCO	Anticorps anti-lincosamides	lincosamides	sulfonamides	antibiotiques	3
SPIRA	Anticorps anti-spyramicine	spyramicine	macrolides	antibiotiques	2
ERY	Anticorps anti-érythromycine	érythromycine	macrolides	antibiotiques	3
CTL1	Anticorps 3 contrôle	Antigène 3 contrôle	contrôle	contrôle	/
TOTAL	104 analytes détectés et discriminés via 17 canaux				

Exemple 4 : Exemple de réalisation de l'essai et résultats obtenus

Un échantillon de lait est mis en contact avec le mélange réactionnel (comprenant le tampon et les molécules de reconnaissance et/ou les ligands compétiteurs sous forme lyophilisée) durant 3 minutes à 30°C. Ensuite, l'extrémité en

5 amont du sens de migration du système récupérateur est plongée dans la solution (comprenant l'échantillon et le mélange réactionnel). Après une incubation de 10 minutes à 30°C, la lecture des résultats est réalisée à l'aide d'un dispositif optique.

Les résultats sont repris dans le tableau 3.

Tableau 3 :

10

15

20

25

Canaux	Concentrations ciblée par le test (ppb ; µg/kg)	Concentration (ppb ; µg/kg)	Signal (unité arbitraire)	Interprétation instrumentale
BETA	≥4	2	1,04	négatif
		4	0,68	positif
CEFA	≥2	1	1,09	négatif
		2	0,64	positif
TETRA	≥50	30	1,10	négatif
		50	0,71	positif
SULFA	≥100	50	1,08	négatif
		100	0,71	positif
SDX	≥100	50	1,08	négatif
		100	0,69	positif
QUINO	≥20	10	1,29	négatif
		20	0,69	positif
CAP	≥0,3	0,2	1,01	négatif
		0,3	0,84	positif
MELA	≥15	10	1,11	négatif
		15	0,86	positif
AFLA	≥0,3	0,1	1,05	négatif
		0,3	0,93	positif
COLI	≥25	20	1,14	négatif
		25	0,72	positif
NEO	≥1200	900	1,04	négatif
		1200	0,69	positif
GEN	≥80	60	1,03	négatif
		80	0,68	positif
STR	≥200	150	1,05	négatif
		200	0,68	positif
TYLO	≥40	30	1,14	négatif
		40	0,80	positif
LINCO	≥80	60	1,08	négatif
		80	0,66	positif
SPIRA	≥50	30	1,05	négatif
		50	0,79	positif
ERY	≥20	10	1,23	négatif
		20	0,73	positif

REVENDICATIONS

1. Moyen de diagnostic immuno-chromatographique (1) pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'une pluralité
- 5 d'analytes présents dans un échantillon (E) essentiellement liquide comprenant :
- au moins un mélange réactionnel (2) contenant des molécules biologiques de reconnaissance et/ou des ligands compétiteurs marqués avec au moins une molécule de visualisation ; et
 - au moins un système récupérateur (3) sous la forme d'un support solide auquel

10 se trouvent fixés des ligands compétiteurs et/ou des molécules biologiques de reconnaissance en des emplacements de récupération (4 et 5) distincts et connus qui sont disposés selon un arrangement matriciel en deux dimensions, de manière à identifier par la localisation desdits emplacements de récupération (4 et 5) sur ledit support, lesdits analytes présents dans ledit échantillon (E),

15 ledit moyen de diagnostic (1) étant caractérisé en ce que,

 - a) ledit arrangement matriciel en deux dimensions est défini selon un système de coordonnées présentant une première coordonnée (X) et une deuxième coordonnée (Y), tel que chaque emplacement de récupération fixé sur ledit support solide permet l'identification d'un analyte distinct ;

20 b) pour la détection et/ou la quantification d'un analyte donné, un couple de diagnostic constitué d'un ligand compétiteur et d'une molécule biologique de reconnaissance est présent, tel que ladite molécule biologique de reconnaissance se trouve dans ledit mélange réactionnel (2) et ledit ligand compétiteur est fixé en au moins un emplacement de récupération (4), ou inversement ;

25 c) ladite au moins une molécule de visualisation est une molécule détectable en fluorescence ; et

 - d) ledit mélange réactionnel (2) est présent dans un contenant, ledit contenant étant distinct dudit système récupérateur (3).

2. Moyen de diagnostic (1) selon la revendication 1, caractérisé en ce

30 que lesdits emplacements de récupération (4 et 5) sont disposés selon un arrangement matriciel en deux dimensions sous la forme de points présentant chacun un diamètre

compris entre 20 μm à 2 mm, de préférence compris entre 100 à 500 μm , préférentiellement entre 250 et 400 μm .

3. Moyen de diagnostic (1) selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que la première coordonnée (X) est définie sur un axe longitudinal (A_L) d'une longueur (L) dudit système récupérateur et la deuxième coordonnée (Y) est définie sur un axe longitudinal (A_L) d'une largeur (l) dudit système récupérateur (3).

4. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ledit système récupérateur (3) comprend au moins 5, de préférence au moins 10, préférentiellement au moins 15 emplacements de récupération (4) distincts destinés à la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'au moins 5, de préférence au moins 10, préférentiellement au moins 15 analytes distincts présents dans un échantillon, et au moins un emplacement de récupération destiné à un contrôle et/ou un calibrateur.

5. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que ledit système récupérateur (3) est sous la forme d'un support solide comprend une membrane ou un ensemble de membranes.

6. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que lesdites molécules biologiques de reconnaissance sont des anticorps, de préférence des anticorps primaires, soit monoclonaux ou polyclonaux, purifiés ou non purifiés, et/ou des aptamères et/ou des GEPIs et/ou des récepteurs biologiques.

7. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que lesdits ligands compétiteurs sont des analogues des analytes recherchés et/ou des molécules capables de fixer spécifiquement lesdites molécules biologiques de reconnaissance.

8. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que ladite au moins une molécule de visualisation est fusionnée auxdites molécules biologiques de reconnaissance et/ou auxdits ligands compétiteurs via un couplage chimique et/ou génétique.

9. Moyen de diagnostic (1) selon la revendication 8, caractérisé en ce que ledit couplage chimique et/ou génétique est réalisé via au moins une force

électrostatique, au moins un lien peptidique, au moins un gène rapporteur, ou une combinaison de ceux-ci.

5 10. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que ladite au moins une molécule de visualisation est choisie dans le groupe constitué de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC), la phycoérythrine (PE), la rhodamine B et de leurs mélanges.

10 11. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que lesdits analytes sont sélectionnés dans le groupe constitué des résidus médicamenteux, des toxines, des virus, des bactéries, des hormones, des métaux lourds, des adultérants, des allergènes et de leurs mélanges.

15 12. Moyen de diagnostic (1) selon la revendication 11, caractérisé en ce que lesdits analytes sont des résidus médicamenteux et sont choisis dans le groupe constitué des pénicillines, des céphalosporines, des tétracyclines, des sulfamides, des aminoglycosides, des aminocyclitols, des macrolides, des quinolones, des ionophores, des carbadox, des nitrofurannes, des phénicols, et de leurs mélanges.

13. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que ledit échantillon (E) est obtenu à partir de lait, de miel, de viande, d'œufs, de sang complet, de sérum, d'urine, ou d'autres liquides biologiques.

20 14. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'une pluralité d'analytes présents dans un échantillon (E), ladite détection et/ou ladite quantification étant caractérisée en ce qu'elle est réalisée au moyen d'un dispositif de lecture optique.

25 15. Moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, les emplacements de récupération (4 et 5) étant disposés selon un arrangement matriciel en trois dimensions.

30 16. Moyen de diagnostic (1) selon la revendications 15, caractérisé en ce que l'arrangement matriciel en trois dimensions est défini selon un système de coordonnées présentant une première coordonnée (X) définie sur un axe longitudinal (A_L) d'une longueur (L) dudit système récupérateur, une deuxième coordonnée (Y) définie sur un axe longitudinal (A_L) d'une largeur (l) dudit système récupérateur (3) et une troisième

coordonnée (Z) définie sur un axe longitudinal (A_p) d'une profondeur (P) dudit système récupérateur.

17. Procédé pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'une pluralité d'analytes présents dans un échantillon (E) essentiellement liquide comprenant les étapes suivantes :

- 5
- mettre en contact un mélange réactionnel d'un moyen d'un diagnostic selon l'une quelconque des revendications 1 à 16 avec l'échantillon (E) pour obtenir un liquide ;
 - 10 - incuber à une température comprise entre 0 et 70°C, pendant une durée inférieure ou égale à 15 minutes ;
 - tremper une extrémité d'un système récupérateur d'un moyen de diagnostic selon l'une quelconque des revendications 1 à 16 dans le liquide ;
 - incuber à une température comprise entre 0 et 70°C, pendant une durée inférieure ou égale à 15 minutes ; et
 - 15 - interpréter qualitativement et/ou quantitativement le résultat sur le système récupérateur au moyen d'un dispositif optique.

18. Ensemble de diagnostic pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon (E) comprenant un moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisé en ce qu'il comprend en outre un dispositif de lecture optique d'un support solide (3) amovible comprenant :

- 20
- un emplacement pour recevoir ledit support solide (3) ;
 - une unité optique pour analyser ledit support solide (3) et comprenant :
 - 25 ○ une première source lumineuse pour émettre selon une intensité d'émission et dans une première plage de longueur d'onde un premier faisceau lumineux vers ledit emplacement ;
 - un système d'imagerie comprenant un détecteur optique pour fournir une image d'une zone de visualisation, ladite zone de visualisation comprenant au moins une portion dudit emplacement ;
 - 30 ○ un filtre pour filtrer une plage de longueur d'onde définie, et positionné entre l'emplacement et ledit système d'imagerie ;

- des moyens de communications pour obtenir une information relative à un support solide (3) ;
- des moyens de sélection pour :
 - 5 ○ sélectionner à partir d'une liste d'analytes prédéfinis correspondant auxdits emplacements de récupération fixés sur le support solide (3), une sélection d'analytes à détecter et/ou à quantifier pour ledit échantillon à partir d'un même support solide (3) ;
- des moyens de traitement d'image de ladite image pour :
 - 10 ○ déterminer, à partir de l'information relative audit support solide (3) à lire, un nombre fini de sous-ensembles de ladite image, chaque sous-ensemble correspondant à un analyte ;
 - fournir des données relatives à des intensités lumineuses issues desdits sous-ensembles;
- des moyens de détermination pour :
 - 15 ○ calculer, pour chaque sous-ensemble correspondant à un analyte sélectionné dans ladite sélection d'analytes une intensité de sous-ensemble ;
 - déterminer sur la base de ladite intensité de sous-ensemble des informations d'analytes dudit échantillon pour chaque sous-ensemble
 - 20 correspondant à un analyte sélectionné dans ladite sélection d'analytes ;
- des moyens de transmission configurés pour transmettre ladite information d'analytes dudit échantillon analysé pour chaque sous-ensemble correspondant à un analyte sélectionné dans ladite sélection d'analytes.

25 19. Ensemble de diagnostic selon la revendication 18, caractérisé en ce que ladite sélection d'analytes est une sélection de plusieurs analytes.

 20. Ensemble de diagnostic selon la revendication 18 ou 19, caractérisé en ce que le dispositif optique comprend en outre :

- des moyens permettant de lire un profil de sélection ;
- et en ce que, lesdits moyens de sélection sont configurés pour réaliser ladite sélection
- 30 d'analytes sur la base dudit profil de sélection.

 21. Ensemble de diagnostic selon l'une quelconque des revendications 18 à 20, caractérisé en ce que chaque sous-ensemble dudit nombre fini de

sous-ensembles de ladite image déterminé par les moyens de traitement d'image correspond à ladite sélection d'analytes, de préférence à chaque analyte sélectionné.

22. Ensemble de diagnostic selon la revendication 20, caractérisé en ce que lesdits moyens de traitement d'image sont configurés pour déterminer en outre
5 le dit nombre fini de sous-ensembles de ladite image à partir dudit profil de sélection.

23. Ensemble de diagnostic selon l'une quelconque des revendications 18 à 22, caractérisé en ce que ladite première source lumineuse est configurée pour émettre directement le dit premier faisceau lumineux directement vers
10 le dit emplacement, de préférence directement vers lesdits emplacements de récupération fixés sur le support solide (3).

24. Ensemble de diagnostic selon l'une quelconque des revendications 18 à 23, caractérisé en ce que le dit support solide (3) comprend des emplacements de récupération sous forme de points présentant chacun un diamètre
15 compris entre 20 μm et 2 mm, de préférence compris entre 100 μm et 500 μm , préférentiellement entre 250 μm et 400 μm .

25. Ensemble de diagnostic pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon (E) comprenant un moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisé en ce qu'il comprend en outre un dispositif de lecture optique d'un support
20 solide amovible comprenant :

- un emplacement pour recevoir le dit support solide (3) ;
- une unité optique pour analyser le dit support solide (3) et comprenant :
 - o une première source lumineuse pour émettre selon une intensité d'émission et dans une première plage de longueur d'onde un premier
25 faisceau lumineux vers le dit emplacement ;
 - o un capteur d'intensité lumineuse pour mesurer l'intensité d'émission émise par ladite première source lumineuse ;
 - o un moyen de rétrocontrôle pour moduler ladite intensité d'émission de
30 ladite première source lumineuse en fonction de l'intensité d'émission mesurée par le dit capteur d'intensité lumineuse de sorte que ladite première source lumineuse émette une intensité cible ;

- un système d'imagerie comprenant un détecteur optique pour fournir une image d'une zone de visualisation, ladite zone de visualisation comprenant au moins une portion dudit emplacement ;
 - un filtre pour filtrer une plage de longueur d'onde définie, et positionné entre l'emplacement et ledit système d'imagerie ;
- 5
- des moyens de traitement d'image de ladite image pour :
 - déterminer un nombre fini de sous-ensembles de ladite image,
 - fournir des données relatives à des intensités lumineuses issues desdits sous-ensembles ;
- 10
- des moyens de détermination pour :
 - calculer, pour chaque sous-ensemble, une intensité de sous-ensemble, et
 - des moyens de transmission pour transmettre une information relative à ladite intensité de sous-ensemble pour chaque sous-ensemble.
26. Ensemble de diagnostic pour la détection et/ou la quantification
- 15 respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon (E) comprenant un moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisé en ce qu'il comprend en outre un dispositif de lecture optique d'un support solide (3) amovible comprenant :
- un emplacement pour recevoir ledit support solide (3) ;
- 20
- une unité optique pour analyser ledit support solide (3) et comprenant :
 - une première source lumineuse (3) pour émettre selon une intensité d'émission et dans une première plage de longueur d'onde un premier faisceau lumineux vers ledit emplacement ;
 - un système d'imagerie comprenant un détecteur optique à deux dimensions pour fournir une image à deux dimensions d'une zone de visualisation, ladite zone de visualisation comprenant au moins une
- 25
- un filtre pour filtrer une plage de longueur d'onde définie, et positionné entre l'emplacement et ledit système d'imagerie ;
- 30
- des moyens de traitement d'image de ladite image à deux dimensions pour :
 - détecter des zones de références de ladite image à deux dimensions,

- déterminer un nombre fini de sous-ensembles de ladite image à deux dimensions,
 - positionner dans ladite image à deux dimensions chaque sous-ensemble à une position prédéterminée par rapport auxdites zones de référence,
 - 5 ○ fournir des données relatives à des intensités lumineuses issues desdits sous-ensembles ;
 - des moyens de détermination pour :
 - calculer, pour chaque sous-ensemble, une intensité de sous-ensemble, et
 - des moyens de transmission configurés pour transmettre ladite intensité de sous-ensemble pour chaque sous-ensemble.
 - 10
27. Ensemble de diagnostic pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon (E) comprenant un moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisé en ce qu'il comprend en outre un dispositif de lecture optique d'un support
- 15 solide (3) amovible comprenant :
 - un emplacement pour recevoir ledit support solide (3) ;
 - un dispositif d'identification pour identifier un support solide (3) à lire ;
 - des moyens de communication pour accéder à une base de données de méthodes relatives audit support solide (3) à lire pour obtenir une information
 - 20 relative à un supporte solide (3) ;
 - une unité optique, pour analyser ledit support solide (3) sur la base de paramètres d'analyse compris dans ladite information relative à un support solide (3) et comprenant :
 - une première source lumineuse pour émettre selon une intensité
 - 25 d'émission et dans une première plage de longueur d'onde un premier faisceau lumineux vers ledit emplacement ;
 - un système d'imagerie comprenant un détecteur optique pour fournir une image d'une zone de visualisation, ladite zone de visualisation comprenant au moins une portion dudit emplacement ;
 - 30 ○ un filtre pour filtrer une plage de longueur d'onde définie, et positionné entre l'emplacement et ledit système d'imagerie ;
 - des moyens de traitement d'image de ladite image pour :

- lire dans l'information relative audit support solide (3) à lire, une information relative à un nombre fini de sous-ensembles de ladite image ;
 - fournir des données relatives à des intensités lumineuses issues desdits sous-ensembles ;
- 5 - des moyens de détermination pour :
- calculer, pour chaque sous-ensemble, une intensité de sous-ensemble, et
 - déterminer sur la base de ladite intensité de sous-ensemble et sur la base de l'information relative audit support solide (3) à lire, des informations d'analyte pour chaque sous-ensemble ;
- 10 - des moyens de transmission configurés pour transmettre ladite information d'analyte pour chaque sous-ensemble.

28. Utilisation d'un moyen de diagnostic (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 16 pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique d'analytes présents dans un échantillon (E), de préférence d'au moins 5, de
15 préférence d'au moins 10, préférentiellement d'au moins 15 analytes appartenant à des classes distinctes, faisant partie de familles d'analytes différentes ou non.

29. Utilisation d'un ensemble de diagnostic selon l'une quelconque des revendications 18 à 27, pour la détection et/ou la quantification respective, simultanée et spécifique de classes d'analytes présents dans un échantillon (E), de
20 préférence d'au moins 5, de préférence d'au moins 10, préférentiellement d'au moins 15 analytes appartenant à des classes distinctes, faisant partie de familles d'analytes différentes ou non.

25

30

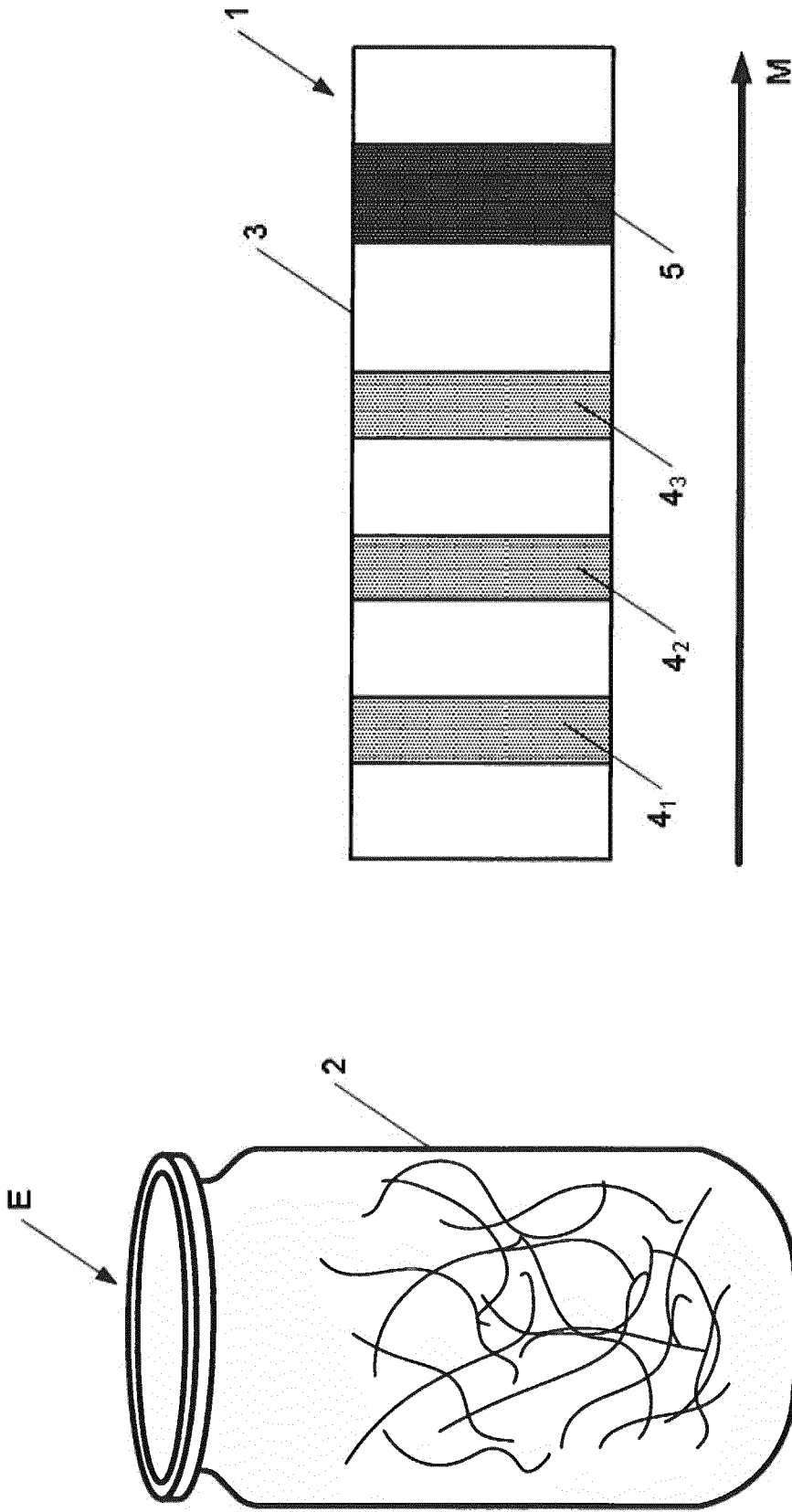


Fig. 1a

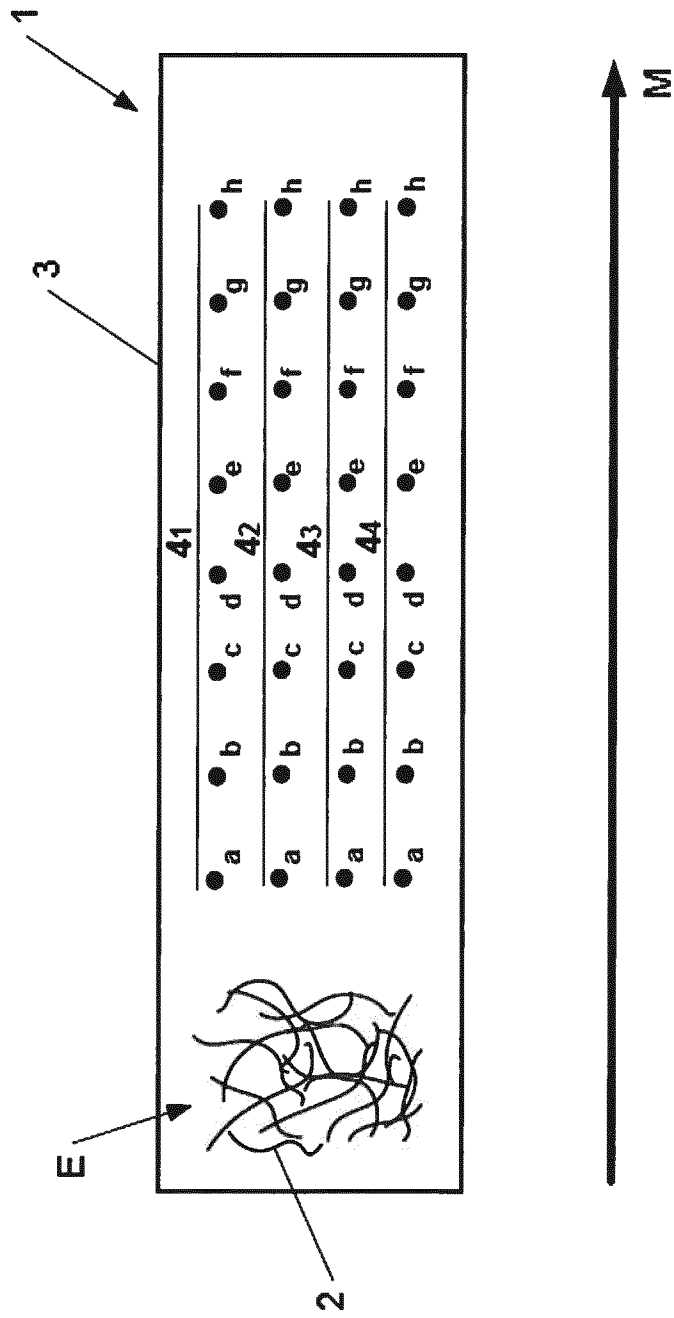


Fig. 1b

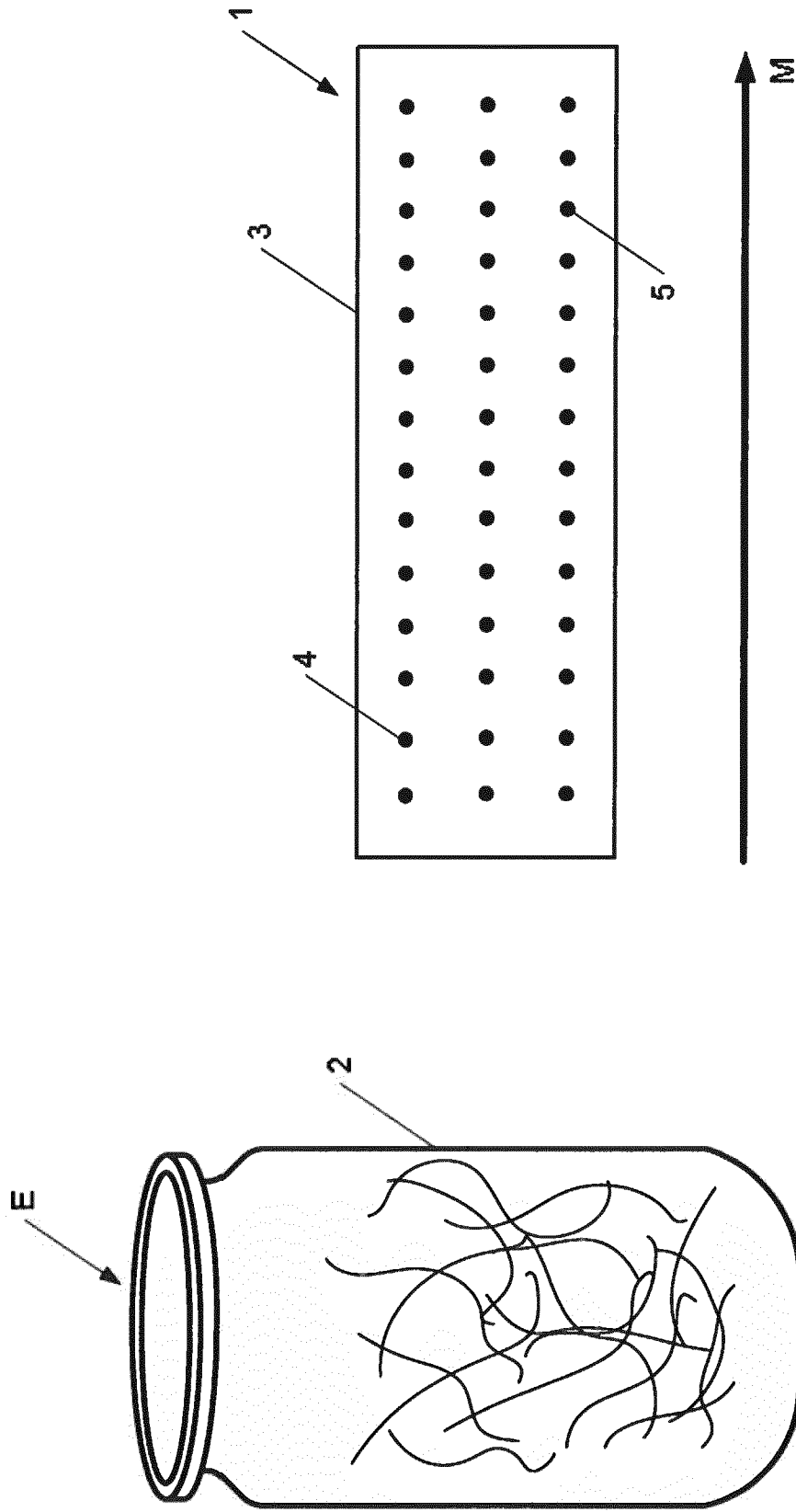


Fig. 2

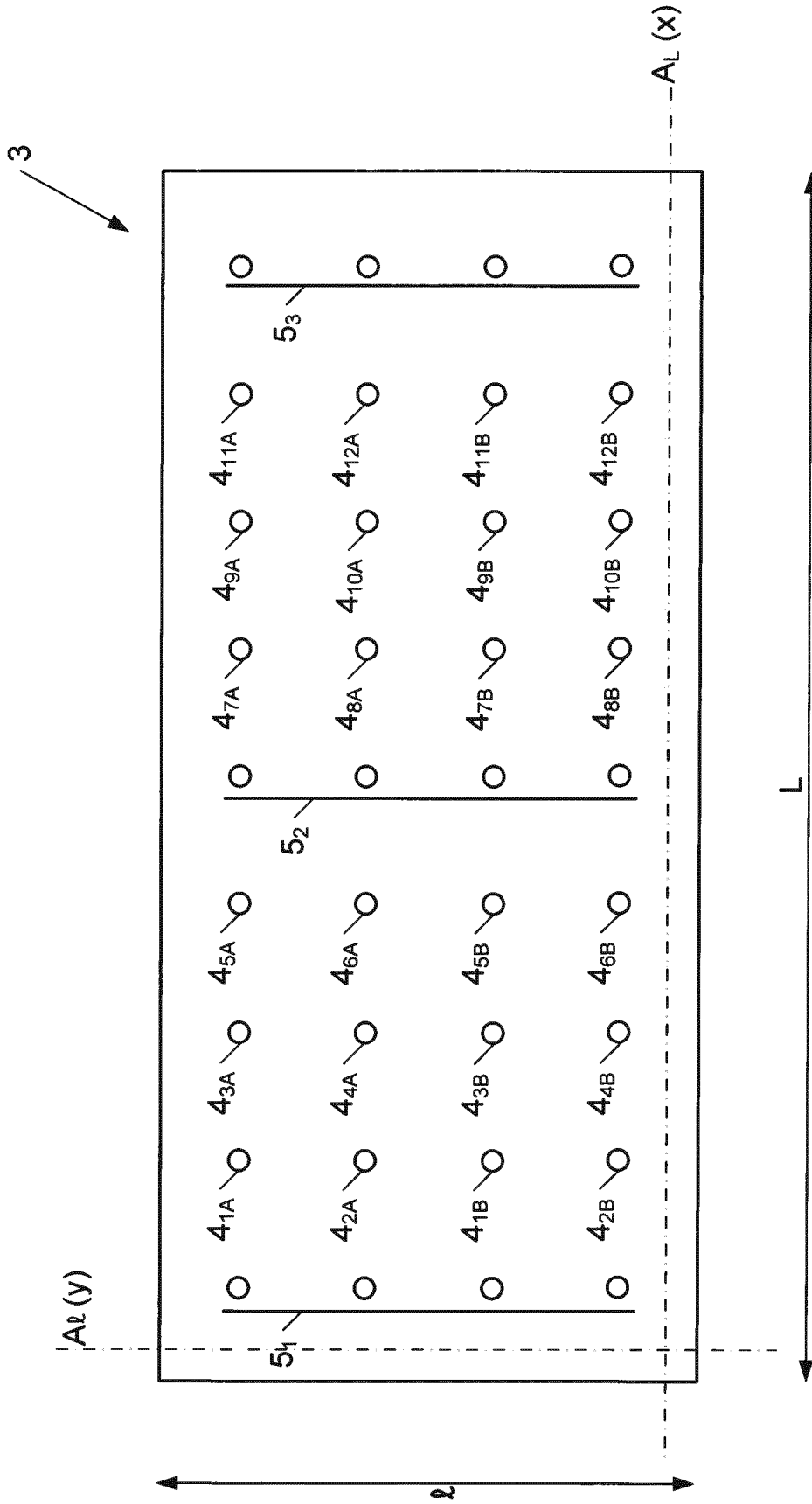


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2018/076993

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. G01N33/543 G01N33/558 G01N33/94 G01N21/64 G01N33/58
 G01N21/6428
 ADD.
 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 EPO-Internal, WPI Data, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	THOMAS P. O'CONNOR: "SNAP Assay Technology", TOPICS IN COMPANION ANIMAL MEDICINE, vol. 30, no. 4, 1 December 2015 (2015-12-01), pages 132-138, XP055473890, AMSTERDAM, NL ISSN: 1938-9736, DOI: 10.1053/j.tcam.2015.12.002 fig 1-2, 5-8 ; pg 132, col 2, para 1 ; pg 134, col 2, last para - pg 135, col 2, l 3 ----- -/--	1-29

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 6 December 2018	Date of mailing of the international search report 13/12/2018
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Vadot-Van Geldre, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2018/076993

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>KNECHT B G ET AL: "AUTOMATED MICROARRAY SYSTEM FOR THE SIMULTANEOUS DETECTION OF ANTIBIOTICS IN MILK", ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 76, no. 3, 1 February 2004 (2004-02-01), pages 646-654, XP001047318, ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/AC035028I abrégé ; Fig 3 ; pg 648, col 1, para 1 - pg 649, col 1, para 1 , pg 649, col 2, para 1 ; pg 650, col 1, para 1 ; pg 654, col 2, para 1</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-29
X	<p>NADEZHDA A. TARANOVA ET AL: "Integration of lateral flow and microarray technologies for multiplex immunoassay: application to the determination of drugs of abuse", MIKROCHIMICA ACTA, vol. 180, no. 11-12, 13 July 2013 (2013-07-13), pages 1165-1172, XP055152769, ISSN: 0026-3672, DOI: 10.1007/s00604-013-1043-2 Fig 1, 3 ; pg 1167, col 1, para 2 - col 2, para 2 ; pg 1171, col 1, para continuant sur la col 2</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-29
X	<p>US 2014/024016 A1 (O'FARRELL BRENDAN [US] ET AL) 23 January 2014 (2014-01-23)</p> <p>para 41, 68-70, 88, 96, 98, 105-106 ; Fig 3A-3B</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-10, 13-16, 18-29
X	<p>WO 2017/075649 A1 (MACDONALD JOANNE [AU]; LI JIA [AU]) 11 May 2017 (2017-05-11)</p> <p>pg 2, l 26-30 ; pg 4, l 12-16 ; pg 30, l 18-26 ; pg 35, l 10-31</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1,3-11, 13-16, 18-29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2018/076993

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2014024016	A1	23-01-2014	
		CN 104619418 A	13-05-2015
		CN 107597218 A	19-01-2018
		EP 2874747 A1	27-05-2015
		US 2014024016 A1	23-01-2014
		WO 2014015076 A1	23-01-2014

WO 2017075649	A1	11-05-2017	
		US 2018319657 A1	08-11-2018
		WO 2017075649 A1	11-05-2017

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/EP2018/076993

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. G01N33/543 G01N33/558 G01N33/94 G01N21/64 G01N33/58 G01N21/6428 ADD. Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) G01N Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	THOMAS P. O'CONNOR: "SNAP Assay Technology", TOPICS IN COMPANION ANIMAL MEDICINE, vol. 30, no. 4, 1 décembre 2015 (2015-12-01), pages 132-138, XP055473890, AMSTERDAM, NL ISSN: 1938-9736, DOI: 10.1053/j.tcam.2015.12.002 fig 1-2, 5-8 ; pg 132, col 2, para 1 ; pg 134, col 2, last para - pg 135, col 2, l 3 ----- -/--	1-29
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
6 décembre 2018		13/12/2018
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale		Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Vadot-Van Geldre, E

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>KNECHT B G ET AL: "AUTOMATED MICROARRAY SYSTEM FOR THE SIMULTANEOUS DETECTION OF ANTIBIOTICS IN MILK", ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 76, no. 3, 1 février 2004 (2004-02-01), pages 646-654, XP001047318, ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/AC035028I abrégé ; Fig 3 ; pg 648, col 1, para 1 - pg 649, col 1, para 1 , pg 649, col 2, para 1 ; pg 650, col 1, para 1 ; pg 654, col 2, para 1</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-29
X	<p>NADEZHDA A. TARANOVA ET AL: "Integration of lateral flow and microarray technologies for multiplex immunoassay: application to the determination of drugs of abuse", MIKROCHIMICA ACTA, vol. 180, no. 11-12, 13 juillet 2013 (2013-07-13), pages 1165-1172, XP055152769, ISSN: 0026-3672, DOI: 10.1007/s00604-013-1043-2 Fig 1, 3 ; pg 1167, col 1, para 2 - col 2, para 2 ; pg 1171, col 1, para continuant sur la col 2</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-29
X	<p>US 2014/024016 A1 (O'FARRELL BRENDAN [US] ET AL) 23 janvier 2014 (2014-01-23)</p> <p>para 41, 68-70, 88, 96, 98, 105-106 ; Fig 3A-3B</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-10, 13-16, 18-29
X	<p>WO 2017/075649 A1 (MACDONALD JOANNE [AU]; LI JIA [AU]) 11 mai 2017 (2017-05-11)</p> <p>pg 2, l 26-30 ; pg 4, l 12-16 ; pg 30, l 18-26 ; pg 35, l 10-31</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1,3-11, 13-16, 18-29

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2018/076993

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2014024016	A1	23-01-2014	
		CN 104619418 A	13-05-2015
		CN 107597218 A	19-01-2018
		EP 2874747 A1	27-05-2015
		US 2014024016 A1	23-01-2014
		WO 2014015076 A1	23-01-2014

WO 2017075649	A1	11-05-2017	
		US 2018319657 A1	08-11-2018
		WO 2017075649 A1	11-05-2017
