



MD/EP 3370515 T2 2022.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3370515 (13) T2

(51) Int. Cl:G01N 33/558 (2006.01.01)  
C07K 16/18 (2006.01.01)  
G01N 33/53 (2006.01.01)  
G01N 21/78 (2006.01.01)  
G01N 21/84 (2006.01.01)  
G01N 33/543 (2006.01.01)  
G01N 33/553 (2006.01.01)  
G01N 21/77 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

MD/EP 3370515 T2 2022.06.30

<p>(21) Numărul de depozit: e 2018 0894</p> <p>(22) Data de depozit: 2016.10.21</p> <p>(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16858381.3, 2016.10.21</p> <p>(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3370515, 2018.09.12</p> <p>(31) Numărul cererii prioritare: 201562244188 P</p> <p>(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.10.21</p> <p>(33) Țara cererii prioritare: US</p>	<p>(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 06/2022, 2022.06.30</p> <p>(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 04/2022, 2022.01.26</p> <p>(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 10/2018, 2018.10.31</p>
<p>(71) Solicitant: REDCOAT SOLUTIONS, INC., US</p> <p>(72) Inventatori: HALL William John, US; ZIN Benedict Louis, US; STURMAN Andy, US; WANG Min, US</p> <p>(73) Titular: REDCOAT SOLUTIONS, INC., US</p> <p>(74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela</p>	

(54) Dispozitiv pentru detectarea ploșnițelor de pat

(57) Rezumat:

1

Sunt descrise forme de realizare a sistemului și a metodei pentru analiza unui fluid de testare pentru a detecta infestările anterioare sau prezente de ploșnițe. Într-o variantă de realizare, metoda poate include

2

primirea fluidului de testare pe o bandă de testare în cadrul dispozitivului de detectare. Banda de testare poate include o porțiune de reacție și o porțiune de reactiv care conține un anticorp sau un fragment de legare la antigen

care este conjugat la o particulă colorată. Lichidul de testare poate include antigenul de ploșniță care reacționează cu anticorpii conjugat. Dispozitivul de detectare poate include un prim și un al doilea senzor optic pentru monitorizarea unei reacții și, respectiv, a intensității culorii de fundal. După trecerea unui interval de timp prestabilit, dispozitivul de detectare determină dacă antigenul de ploșnițe de pat este prezent în fluidul de testare utilizând intensitățile de culoare monitorizate și pragurile minime și maxime de intensitate a culorii asociate cu ploșnițele de pat. Apoi, dispozitivul de detectare emite un rezultat folosind un afișaj vizual.

#### (54) Bed bugs detection device

##### (57) Abstract:

1

System and method embodiments for analyzing a test fluid to detect prior or present infestations of bed bugs are described. In an embodiment, the method may include receiving the test fluid on a test strip within the detection device. The test strip may include a reaction portion and a reagent portion containing an antibody or antigen-binding fragment that is conjugated to a colored particle. The test fluid may include bed bug antigen that reacts with the conjugated antibody. The detection device may include a first and a second optical sensor for monitoring

Revenicări: 14

Figuri: 34

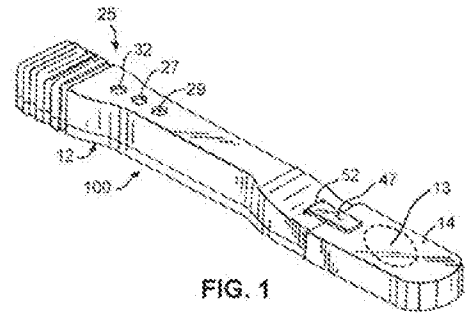


FIG. 1

2

a reaction and a background color intensity, respectively. Upon a predetermined time delay elapsing, the detection device determines whether bed bug antigen is present in the test fluid using the monitored color intensities and minimum and maximum color intensity thresholds associated with bed bugs. Then, the detection device outputs a result using a visual display.

Claims: 14

Fig.: 34

**Descriere:****(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIU**

5 Prezentă invenție se referă la metode și dispozitive utilizate pentru analiza unui fluid de testare, în scopul de a detecta infestările anterioare sau prezente cu ploșnițe de pat.

**CUNOȘTINȚE DE BAZĂ ALE INVENȚIEI**

10 Studiile și sondajele din ultimul deceniu sugerează faptul că infestările cu ploșnițe de pat au devenit din ce în ce mai răspândite atât în Statele Unite, cât și în întreaga lume. Pentru a începe tratarea infestărilor cu ploșnițe de pat, operatorii de combatere a dăunătorilor au nevoie de metode eficiente și de precizie pentru detectarea și identificarea prezenței ploșnițelor de pat.

15 Conform cu un exemplu obișnuit, un operator pentru combaterea dăunătorilor este desemnat să inspecteze o unitate de locuit (*de exemplu*, o casă, un apartament, un hotel sau un spital) unde pot să fie prezente ploșnițe de pat. Opțiunile actuale de detectare includ inspectarea vizuală a unei camere care este suspectată, care este inefficientă și nesigură, sau obținerea unui eșantion de reziduuri suspectate ca fiind de ploșnițe de pat, care să fie testat într-un laborator de testare, în afara amplasamentului. Adesea, operatorul pentru combaterea dăunătorilor poate avea nevoie să folosească echipamente scumpe pentru testarea AND-ului, în afara amplasamentului, pentru a efectua analiza reziduurilor care sunt suspectate ca fiind

20 dovezi prezenței ale ploșnițelor de pat. În plus, echipamentele de testare a ploșnițelor de pat (de exemplu, echipamentele de testare a AND-ului) nu pot să fie folosite adesea la fața locului și pot să necesite de la 24 până la 48 de ore pentru a obține un rezultat al testării. Brevetul de invenție U.S. No. 8 375 626 descrie metode și benzi de testare destinate pentru a detecta ploșnițele de pat folosind un anticorp IgE și indicatori colorimetrici.

25

**REZUMAT**

În conformitate cu anumite aspecte, care sunt dezvăluite în prezenta descriere, se furnizează un sistem și o metodă pentru a determina, folosind un dispozitiv de detectare, dacă este detectată prezența uneia sau a mai multor insecte dăunătoare. Dispozitivul de detectare poate să fie configurat pentru a stoca

30 profiluri de dăunători, fiecare cu praguri pentru una sau mai multe caracteristici ale profilului. Conform cu un exemplu de realizare, dispozitivul de detectare detectează, într-o anumită perioadă de timp, prezența unui fluid de eșantion (sau a fluidului de testare), care este testat în timpul unui test de debit lateral, care este procesat în cadrul dispozitivului de detectare. Dispozitivul de detectare verifică suplimentar dacă o cantitate suficientă de particule colorate a trecut printr-o zonă de testare, astfel încât să poată să fie

35 detectată prezența unuia sau a mai multor dăunători în fluidul de eșantion. Apoi, dispozitivul dezvăluit compară rezultatele testării cu unul sau cu mai multe profiluri de dăunători pentru a determina dacă unul sau mai mulți dăunători sunt prezenți.

Conform cu prezenta invenție, un dispozitiv de detectare primește un fluid de testare în apropierea primului capăt al unei benzi de testare în interiorul dispozitivului de detectare, în care fluidul

40 de testare curge pe lângă o parte cu reactiv a benzii de testare, care conține particule colorate și printr-o parte de reacție a benzii de testare, în care partea cu reactiv conține anticorpi conjugați cu particulele colorate, și în care anticorpii conjugați sunt capabili să lege un antigen de ploșniță de pat din fluidul de testare pentru a forma molecule de ploșnițe de pat. Un prim senzor optic, din cadrul dispozitivului de detectare, monitorizează intensitatea culorii de reacție din partea de reacție a benzii de testare, deoarece

45 anticorpii imobilizați în partea de reacție se leagă de moleculele de ploșniță de pat. Cel de-al doilea senzor optic, din cadrul dispozitivului de detectare, monitorizează intensitatea culorii de fundal a unei părți a benzii de testare din apropierea părții de reacție. Dispozitivul de detectare determină că o cantitate inițială de fluid de testare a trecut prin partea de reacție pe baza intensității culorii de reacție monitorizată și pe baza intensității culorii de fundal monitorizată. Dispozitivul de detectare va determina, că o anumită cantitate de particule colorate din partea cu reactiv a trecut prin partea de reacție, pe baza intensității culorii de reacție monitorizată și pe baza intensității culorii de fundal monitorizată. Dispozitivul de detectare va determina faptul că a trecut o perioadă de timp de la determinarea faptului că o cantitate dată de particule colorate a trecut prin partea de reacție. Dispozitivul de detectare va determina un rezultat al profilului ploșnițelor de pat folosind intensitățile de culoare monitorizate precum și pragurile minime și

50 maxime ale intensității de culoare, perioada de întârziere, pragul minim de intensitate a culorii și pragul maxim de intensitate a culorii fiind stocate în memoria dispozitivului de detectare și în care rezultatul profilului indică dacă a fost detectată o prezență de ploșnițe de pat în fluidul de testare. Apoi, dispozitivul de detectare emite rezultatul profilului ploșniței de pat folosind un afișaj vizual. Anticorpii și fragmentele care leagă-antigenul acestora, care urmează să fie utilizați în metoda și dispozitivul definite conform

55 prezenței invenției, sunt definiți conform cu revendicările anexate.

60

Conform cu anumite exemple de realizare, anticorpii utilizati în metoda și dispozitivul, definite conform cu prezenta invenție, s-a generat de către hibridomul depus la autoritatea American Type Culture Collection (ATCC) sub numărul de acces PTA-122644 [BB2].

5 Conform cu anumite exemple de realizare, anticorpii utilizati conform cu metoda și cu dispozitivul, care sunt definite conform prezentei invenții, s-a generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7].

10 Conform cu anumite exemple de realizare, anticorpii este un anticorp monoclonal sau un fragment al acestuia care leagă antigenul care cuprinde regiunile de determinare a complementarității lanțului greu și a lanțului ușor (CDR) ale unui anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau un anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite exemple de realizare, anticorpii sau fragmentul care leagă - antigenul acestuia cuprind lanțurile grele și lanțurile ușoare ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpii generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub Număr de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite exemple de realizare, anticorpii sau fragmentul care leagă - antigenul acestuia cuprinde lanțurile grele și lanțurile ușoare ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpii generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7].

20 Conform cu anumite exemple de realizare, anticorpii sau fragmentul care leagă - antigenul au capacitatea să se lege la un antigen al ploșnițelor de pat într-un lizat de ploșnițe de pat întregi sau într-un extract pe hârtie de colectare, care cuprinde materialul rezidual al ploșniței de pat.

25 Conform cu anumite aspecte, anticorpii este un mutant al unui anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau este un mutant al unui anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7], în care mutantul are capacitatea să se lege la un antigen al ploșnițelor de pat într-un lizat de ploșnițe de pat întregi sau într-un extract pe hârtie de colectare care cuprinde material rezidual al ploșnițelor de pat.

30 Conform cu anumite aspecte, anticorpii este un anticorp monoclonal conjugat sau un fragment care leagă antigenul conjugat care cuprinde oricare dintre anticorpii, fragmentele care leagă-antigenul sau mutanții care s-au dezvoltat în invențiile sau exemplele de realizare prezentate mai sus și un agent de detectare. Conform cu anumite exemple de realizare, agentul de detectare este aurul coloidal. Anticorpii conjugat sau fragmentul care leagă-antigenul care s-au utilizat conform cu metoda și cu dispozitivul dezvoltate în prezenta invenție, este un anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2], sau un fragment care leagă-antigenul acestuia, sau un anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7] sau un fragment care leagă-antigenul acestuia.

35 Anumite aspecte pot să includă o compoziție care cuprinde oricare dintre anticorpii menționați mai sus, fragmente care leagă-antigenul, mutanți sau anticorpii conjugati sau fragmente care leagă-antigenul acestora conjugate sau o combinație între acestea. Conform cu anumite aspecte, compoziția cuprinde un anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] și un anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite aspecte, compoziția cuprinde un anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] și un anticorp conjugat care cuprinde anticorpii generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7] și un agent de detectare. Conform cu anumite aspecte, compoziția cuprinde un anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7] și un anticorp conjugat care cuprinde anticorpii generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] și un agent de detectare.

50 Conform cu anumite aspecte prezenta invenție poate să se refere la un kit, care cuprinde oricare dintre invențiile sau exemplele de realizare prezentate mai sus sau o combinație între acestea.

Conform cu anumite aspecte prezenta invenție poate să se refere la un hibridom capabil să producă un anticorp, în care hibridomul s-a depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau în care hibridomul s-a depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7].

55 Conform cu anumite aspecte prezenta invenție poate să se refere la o celulă izolată care produce un anticorp, un fragment care leagă-antigenul sau un mutant al oricăreia dintre invențiile sau exemplele de realizare prezentate mai sus.

60 Conform cu anumite aspecte prezenta invenție poate să se refere la o metodă de generare a unui anticorp, a unui fragment care leagă-antigenul sau a unui mutant ai oricăreia dintre invențiile sau exemplele de realizare prezentate mai sus, metodă care cuprinde etapa de cultivare a unei celule izolate

care generează anticorpii, fragmentul care leagă-antigenul sau mutantul și etapa privind izolarea anticorpului, a fragmentului care leagă-antigenul sau a mutantului din celula cultivată.

Conform cu anumite aspecte prezenta invenție poate să se refere la o metodă de detectare a ploșnițelor de pat, metodă care cuprinde etapa de aducere în contact a unui eșantion care cuprinde antigenul ploșniței de pat cu oricare dintre anticorpi, fragment care leagă-antigenul, mutant, anticorpi conjugat sau fragmente care leagă-antigenul conjugate sau compoziții sau o combinație între acestea și detectarea legării antigenului insectei de pat la anticorpii sau la fragmentul care leagă-antigenul, la mutantul, la anticorpii conjugat sau la fragmentul care leagă-antigenul acestuia conjugat, la compoziția sau la combinația acestora. Conform cu anumite aspecte, eșantionul este adus în contact cu un anticorpi și cu un anticorpi conjugat. Conform cu anumite aspecte, anticorpii este generat de hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2], iar anticorpii conjugat cuprinde anticorpii generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7] și un agent de detectare. Conform cu anumite aspecte, anticorpii este generat de hibridomul care a fost depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7], iar anticorpii conjugat cuprinde anticorpii generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] și un agent de detectare. Conform prezentei invenții, detectarea cuprinde efectuarea unui test de debit lateral. Conform cu anumite aspecte, metoda cuprinde, în plus, colectarea unui eșantion, care cuprinde antigenul ploșniței de pat, folosind un dispozitiv de colectare și extragerea antigenelor din eșantion. Conform cu anumite aspecte, dispozitivul de colectare este un tampon.

## SCURTĂ DESCRIERE A FIGURILOR

FIG.1: ilustrează o diagramă a unui dispozitiv de detectare care este destinat pentru detectarea prezenței ploșnițelor de pat.

FIG.2: ilustrează o vedere explodată a dispozitivului de detectare care este ilustrat în FIG. 1

FIG.3: ilustrează o vedere în elevație în secțiune mărită a dispozitivului de detectare care este ilustrat în FIG.

FIG.4: ilustrează o vedere în secțiune mărită a dispozitivului de detectare care este ilustrat în FIG.3 înainte ca o parte de capac să fie îndepărtată.

FIG.5: ilustrează o vedere în elevație în secțiune fragmentară a dispozitivului care este ilustrat în FIG.3 atunci când partea de capac este îndepărtată.

FIG.6: ilustrează o vedere în secțiune mărită a dispozitivului care este ilustrat în FIG.5 după ce o parte de capac este îndepărtată.

FIG.7: ilustrează o diagramă bloc care ilustrează componentele dintr-un procesor al unui dispozitiv de detectare

FIGURILE de la 8 până la 13: prezintă organigrame care ilustrează metodele efectuate de un dispozitiv de detectare.

FIG.14: ilustrează o diagramă care ilustrează rezultatele, cu titlu de exemplu, care s-au obținut conform cu testele de debit lateral ale eșantionului analizat, conform cu un dispozitiv de detectare.

FIG.15: prezintă rezultatele unui test de captare tip sandwich utilizând anticorpii monoclonali anti-ploșniță de pat BB2 și BB7. Benzile de nitroceluloză sunt ilustrate cu legarea antigenului ploșniței de pat indicată prin puncte asociate cu prezența anticorpului monoclonal BB2 sau BB7 conjugate - cu aur ("Detector Ab"), având pH-ul anticorpului conjugat - cu aur așa după cum este indicat. Benzile de testare sunt indicate prin "ploșnița de pat" pentru antigen. Benzile de control negative sunt indicate prin "niciunul" referitor la antigen, în benzi fiind adăugat PBS în loc de antigenul ploșniței de pat. Anticorpii de captare asociați cu benzile 1-3 au fost anticorpi policlonali de iepure anti-ploșniță de pat (banda 1), anticorpii monoclonal BB2 (banda 2) și anticorpii monoclonal BB7 (banda 3).

FIGURILE de la 16 până la 21: prezintă rezultatele unui imunotest de debit lateral pentru eșantioanele de tampon care s-au obținut din nivelurile notate de infestare a ploșnițelor de pat, în care nivelul 0 nu conține ploșnițe de pat și în care nivelul 8 conține cel mai înalt nivel de ploșnițe de pat. Eșantioanele de tampon au fost extrase în tampon de extracție 1 care conține IX Tris-HCl (pH= 7,6), 0,05 % Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0,1 % BSA și 0,1 % Tween-20 și diluțiile notate au fost aplicate pe benzile de testare. Termenul "tampon" indică o bandă de test de control negativ în care a fost aplicat tamponul 1 în loc de un eșantion de tampon. Toate benzile conțin o bandă de control pozitiv de anticorpi de capră anti-șoarece, care este situat deasupra unei benzi de anticorpi de captare BB7 pentru legarea antigenului de ploșniță de pat. Dungile devin detectabile vizual numai după legarea anticorpului monoclonal BB2 de șoarece conjugat - cu aur la banda de control pozitiv anti-șoarece de capră sau la antigenul de ploșniță de pat imobilizat captat de banda BB7. Linia de pe banda "Tampon" și liniile corespunzătoare de pe benzile de testare reprezintă controale pozitive care indică legarea anticorpului anti-șoarece de capră la anticorpii detector BB2 conjugat cu aur. Numai controalele pozitive sunt detectabile în FIG.16 din cauza absenței antigenului. Liniile de sub liniile de control pozitiv care sunt ilustrate în FIGURILE de la 17 până la 21 indică legarea anticorpului BB2

conjugat cu aur la antigenul de ploșniță de pat imobilizat captat de banda BB7. FIG. 20 și FIG.21 afișează murdărie și reziduuri vizibile pentru eșantioanele mai puțin diluate în partea de jos a benzilor de testare asociate cu nivelurile mai ridicate de infestare cu ploșnițe de pat.

5 FIG.22A și FIG.22B: prezintă grafice bazate pe măsurători efectuate de cititorul de benzi de testare Axxin a eșantioanelor de tampon pentru nivelurile 2, 4 și 8 extrase în tamponul 1. În FIG.22A, "concentrația" pe  
 10 axa x reprezintă diluția asociată cu eșantioanele de tampon măsurate, iar pe axa y reprezintă valoarea corespunzătoare "ariei liniei de testare" furnizată de cititorul de benzi de testare Axxin. Conform cu FIG.22B, valoarea obținută pentru tamponul 1 ca martor negativ (*adică* "Bo") a fost împărțită prin ea  
 15 înșăși pentru obținerea unei valori normalizată de 1. Citirea controlului negativ (Bo) a fost apoi împărțită la aria liniei de testare (B) pentru fiecare diluție a eșantionului de testat din nivel, în care valorile mai mici  
 20 sub 1 sugerează cantități mai mari de antigen al ploșniței de pat și valorile de peste 1 indică absența antigenului ploșniței de pat.

FIGURILE de la 23 până la 25: prezintă rezultatele unui imunotest de debit lateral corespunzătoare  
 15 eșantioanelor de tampon obținute din nivelurile notate de infestare cu ploșnițe de pat. Eșantioanele de tampon au fost extrase în tampon de extracție 2 care conține IX Tris-HCl (pH 7,6), 0,05 % NaN<sub>3</sub>, 0,1 % BSA și 0,2 % Tween-20 și diluțiile notate s-au aplicat pe benzile de testare. FIG.25 prezintă murdărie și  
 reziduuri vizibile pentru eșantioanele mai puțin diluate în partea de jos a benzilor de testare asociate cu  
 nivelurile mai ridicate de infestare cu ploșnițe de pat. Marcarea benzilor și interpretarea rezultatelor este  
 așa după cum s-a descris pentru FIGURILE de la 16 până la 21.

20 FIG. 26A și FIG.26B: prezintă grafice bazate pe măsurători efectuate de cititorul de benzi de testare Axxin a eșantioanelor de tampon pentru nivelurile 4, 5 și 8 extrase în tamponul 2. Marcarea graficelor  
 este așa după cum s-a descris pentru FIG.22A și FIG.22B.

FIGURILE de la 27 până la 31: ilustrează rezultatele unui imunotest cu flux lateral corespunzătoare  
 25 eșantioanelor de tampon obținute din nivelurile notate de infestare cu ploșnițe de pat. Eșantioanele de tampon s-au extras în tampon de extracție 3 care conține IX Tris-HCl (pH 7,6), 0,05 % NaN<sub>3</sub>, 0,25 % BSA și 0,1 % Tween-20 și diluțiile notate s-au aplicat pe benzile de testare. FIG.30 și FIG.31 afișează  
 murdărie și reziduuri vizibile pentru eșantioanele mai puțin diluate în partea de jos a benzilor de testare  
 asociate cu nivelurile mai ridicate de infestare cu ploșnițe de pat. Marcarea benzilor și interpretarea  
 rezultatelor este așa după cum s-a descris pentru FIGURILE de la 16 până la 21.

30 FIG.32A și FIG.32B: prezintă grafice bazate pe măsurători efectuate de cititorul de benzi de testare Axxin a eșantioanelor de tampon pentru nivelurile 2, 5 și 8 extrase în tamponul 3. Marcarea graficelor este așa  
 după cum s-a descris pentru FIG.22A și 22B.

FIG.33A și FIG.33B: prezintă grafice bazate pe măsurători efectuate de cititorul de benzi de testare Axxin  
 35 care ilustrează o comparație a rezultatelor corespunzătoare eșantioanelor de tampon de nivel 8 extrase în  
 tamponul 1, 2 și 3. Marcarea graficelor este așa după cum s-a descris pentru FIG.22A și 22B.

FIG.34: prezintă un grafic bazat pe măsurători efectuate de cititorul de benzi de testare Axxin pentru nouă  
 40 replici ale tamponului de extracție 1, ca martor negativ și nouă replici pentru fiecare dintre diluțiile  
 1/2048, 1/512 și 1/128 corespunzătoare pentru eșantioanele de tampon de nivel 7 extrase în tampon 1.  
 Axa x indică cele nouă replici prin numărul de "încercare"; axa y este aceeași cu aceea descrisă pentru  
 FIG.22A.

Desenul în care un element apare pentru prima dată este de obicei indicat prin cifra sau cifrele  
 cele mai din stânga în numărul de referință corespunzător. În desene, numerele de referință similare pot să  
 indice elemente identice sau similare în mod funcțional.

#### 45 **DESCRIERE DETALIATA**

Este nevoie de un dispozitiv de detectare portabil și fiabil, care poate să fie utilizat la fața locului  
 pentru identificarea și detectarea prezenței ploșnițelor de pat în câteva minute. În conformitate cu anumite  
 50 aspecte ale prezentei dezvoltării, sunt furnizate un sistem și o metodă destinate pentru a determina, cu  
 ajutorul unui dispozitiv de detectare, dacă este detectată prezența uneia sau a mai multor insecte  
 dăunătoare. Dispozitivul de detectare poate să fie configurat pentru a stoca profiluri de dăunători, fiecare  
 cu praguri pentru una sau pentru mai multe caracteristici ale profilului dăunătorilor. Conform cu un  
 exemplu de realizare, dispozitivul de detectare determină, într-o anumită perioadă de timp, prezența unui  
 fluid de eșantion, care este testat în timpul unui test de debit lateral procesat în cadrul dispozitivului de  
 55 detectare. Dispozitivul de detectare verifică suplimentar dacă o cantitate suficientă de particule colorate a  
 trecut de zona de testare, astfel încât să poată să fie detectată prezența unuia sau a mai multor dăunători în  
 fluidul de eșantion. Apoi, dispozitivul dezvoltat compară rezultatele testării cu unul sau cu mai multe  
 profiluri de dăunători pentru a determina dacă unul sau mai mulți dăunători sunt prezenți.

#### **Implementarea sistemului**

60 FIG.1 prezintă o diagramă care ilustrează un dispozitiv de detectare **100** destinat pentru  
 detectarea prezenței ploșnițelor de pat. Dispozitivul de detectare **100** poate să fie implementat în mod

similar cu un dispozitiv de testare descris în brevetul de invenție U.S. No. 7.220.597, intitulat "Assay Test Device and Method of Making Same" și în brevetul de invenție U.S. No.7.214.542, "Method of Processing Assay Test Results". Așa cum s-a arătat, dispozitivul de detectare **100** poate să includă o carcasă alungită **12** care este adaptată să fie ținută în mâna unui utilizator, cum ar fi un operator pentru combaterea dăunătorilor. Conform cu un aspect, carcasa **12** poate să includă capacul detașabil **14** care este atașat suplimentar la dispozitivul de acționare a comutatorului **47** care se extinde prin deschiderea **52**. După cum se detaliază în continuare în FIG. 5 prezentată mai jos, atunci când capacul detașabil **14** este îndepărtat, dispozitivul de detectare **100** poate să fie activat (*de exemplu*, deschis) pentru a începe executarea unui program software de detectare pentru a identifica și a detecta prezența ploșnițelor de pat. Conform cu un aspect, în loc de capacul detașabil **14**, dispozitivul de detectare **100** poate să includă deschiderea **13**, astfel încât dispozitivul de detectare **100** să poată să fie activat atunci când este detectată lumina care intră prin deschiderea **13**. Conform cu un exemplu de realizare, dispozitivul de detectare **100** poate să includă un comutator sau un buton pentru activarea dispozitivului de detectare **100**.

Sistemul de afișare a rezultatului **25** poate să includă o diodă emițătoare de lumină galbenă (LED) **27**, verde LED **29** și roșie LED **32** dispuse pe un rând pe suprafața superioară a carcasei **12** și poziționate în găurile corespunzătoare **34**, **36** și **38** care sunt ilustrate în FIG.2. Un anumit unul sau mai multe LED-uri **27**, **29** și **32** pot să fie controlate de procesorul **21** care este ilustrat în FIG. 2 pentru ca să indice, de exemplu, la pornire, dacă rezultatul detectării indică faptul că există ploșnițe de pat sau dacă rezultatul detectării este nedeterminat. Conform cu un anumit aspect, pot să fie folosite, în schimb, un afișaj LED, un afișaj LCD sau alte dispozitive electronice de afișare pentru a afișa rezultatul detectării.

FIG.2 prezintă o diagramă care ilustrează o vedere explodată a dispozitivului de detectare **100**, cu titlu de exemplu, care este ilustrat în FIG. 1. FIG. 3 ilustrează, în plus, o vedere în elevație mărită a dispozitivului de detectare **100** care este ilustrat în FIG.1. Carcasa **12** poate să includă partea inferioară **69** care este fixată de partea superioară **72** pentru a include placa de circuit imprimat **19** și banda de testare alungită **16** care este dispusă longitudinal în interiorul carcasei **12**. De asemenea este prezentat un capac detașabil conectat la dispozitivul de acționare a comutatorului **47** care include o bandă izolatoare **49**, care poate să fie sub forma unei benzi rigide din materiale adecvate, cum ar fi materialul termoplastic sau un alt astfel de material. Dispozitivul de detectare **100** poate să fie activat atunci când banda izolatoare **49** este îndepărtată din și prin deschiderea **52**.

Banda de testare **16** poate să fie sub forma benzii de testare așa cum este descrisă în cererea de brevet european nr. EP 0.962.771A1. Conform cu un aspect, banda de testare **16** furnizează un mediu pentru efectuarea unui test de debit lateral sau a unui imunotest de debit lateral utilizate de dispozitivul de detectare **100** pentru a determina dacă ploșnițele de pat sunt prezente sau detectate. În funcție de tipul de bandă de testare **16** și de materialele/componentele încorporate pe sau în interiorul benzii de testare **16**, detectorul dispozitivului **100** poate să detecteze, de asemenea, prezența altor tipuri de insecte dăunătoare (de exemplu, gândaci sau termite) sau sau dacă mai mulți dăunători, care includ ploșnițele de pat, sunt prezenți.

Pentru a efectua un test de debit lateral, banda de testare **16** include o bandă de suport **54** care are un tampon eșantion sau fitil eșantion **56** pentru primirea și absorbția unui fluid de eșantion care poate să conțină antigene de ploșnițe de pat. De exemplu, fluidul de eșantion poate să fie un extract obținut dintr-un eșantion care poate să cuprindă reziduuri de ploșnițe, cum ar fi deșeuri și/sau țesuturi. Conform cu un aspect, pentru a se obține fluidul de eșantion, un operator pentru combaterea dăunătorilor poate să utilizeze, mai întâi, un material de tamponare (de exemplu, un tampon de bumbac) pentru a tampona punctele fierbinți ale ploșnițelor de pat într-o locație dată. Exemplele de puncte fierbinți pentru ploșnițe de pat pot să se refere la lenjeria de pat, la ramele de saltea, la picioarele de saltea, la prize, la pervazuri, la suprafețe de mobilier sau la alte regiuni din apropierea unei zone de dormit (de exemplu, salteaua, așternuturile tradiționale japoneze sau canapeaua). După tamponarea punctelor fierbinți ale ploșnițelor de pat, operatorul pentru combaterea dăunătorilor poate, apoi, imersa materialul de tamponare, care poate să conțină reziduuri de ploșnițe de pat, într-un tampon cu extract. (*adică* un lichid care poate să extragă antigenele de ploșnițe de pat dintr-un eșantion) într-un flacon sau în alte recipiente pentru obținerea unui fluid de eșantion. Apoi, operatorul pentru combaterea dăunătorilor poate să picure porțiuni din lichidul tampon pe un tampon eșantion sau pe un fitil eșantion **56**, care primește amestecul tampon lichid - tampon drept fluid de eșantion.

Conform cu un aspect în care dispozitivul de detectare **100** include un capac detașabil **14**, banda de testare **16** se poate extinde în afara carcasei **12** și poate să fie acoperită de capacul detașabil **14** sau de o parte a capacului atunci când este asamblată pe carcasa **12**. Atunci când capacul detașabil **14** este îndepărtat din carcasa **12**, fitilul **56** este expus astfel încât fluidul de eșantion să poată să fie aplicat conform descrierii. Conform cu un exemplu de realizare, în care dispozitivul de detectare nu include capacul detașabil **14**, fitilul **56** poate să primească, în schimb, fluidul de eșantion aplicat prin deschiderea **13**, așa cum este ilustrat în FIG. 1.

Banda de testare **16** include o bandă purtătoare poroasă **58** care posedă o secțiune cu reactiv sau un tampon **61** fixat pe fitilul **56** și o secțiune de absorbție a fluidului sau un tampon de absorbție **63** în partea de capăt opusă a benzii de testare **16** față de fitilul **56**. Banda purtătoare poroasă **58** permite fluidului de eșantion provenit de la fitilul **56** să curgă prin tamponul cu reactiv **61** și zona de formare a

5

liniei **65** către tamponul de absorbție **63** unde excesul de lichid de eșantion este absorbit.

O secțiune de captare sau o zonă de formare a liniei **65**, de pe suprafața superioară a unei porțiuni intermediare a benzii purtătoare poroase **58**, este dispusă vizavi de un senzor de reacție sau de un senzor frontal **23**. În zona de formare a liniei **65**, este formată o linie de intensitate și colorare specifică de îndată ce are loc reacția care implică antigenele ploșnițelor de pat, dacă o cantitate suficientă de antigen de ploșnițe de pat este prezentă în fluidul de eșantion, ceea ce indică faptul că ploșnițele de pat sunt prezente într-o cameră care este suspectată că găzduiește ploșnițe de pat. Conform cu un exemplu de realizare, dispozitivul de detectare **100** poate citi o măsurătoare a senzorului frontal **23** pentru a determina dacă este detectată prezența ploșnițelor de pat. Conform cu un exemplu de realizare, pentru a crește acuratețea și pentru a reduce (sau pentru a elimina) timpul de calibrare, dispozitivul de detectare **100** poate să utilizeze măsurători provenite de la mai mult de un senzor, cum ar fi de la senzorul frontal **23** și de la senzorul posterior **18**.

10

15

Conform cu un exemplu de realizare, tamponul cu reactiv **61** poate să conțină un amestec solubilizabil de anticorpi anti-ploșnițe de pat conjugați cu particule colorate. Exemple de particule colorate pot să includă, de exemplu, aur coloidal, microsferă de latex sau markeri fluorescenți. O particulă colorată este utilizată ca agent de detectare, astfel încât cu cât sunt detectate mai multe particule colorate de dispozitivul de detectare **100** în timpul evaluării profilului (care urmează să fie descris în continuare cu referire la FIG.7), cu atât probabilitatea ca un dăunător, cum ar fi ploșnițele de pat, să fie prezent în eșantion este mai mare. Pe măsură ce fluidul de eșantion primit de fitil **56** migrează prin tamponul cu reactiv **61** către partea intermediară a benzii purtătoare **58**, fluidul de eșantion se poate amesteca cu amestecul solubilizabil din tamponul cu reactiv **61** pentru a forma un amestec eșantion-conjugat. Antigenii ploșnițelor de pat prezenți în fluidul de eșantion se pot lega de anticorpii anti-ploșnițelor de pat conjugați pentru a forma molecule eșantion-conjugate. Când fluidul de eșantion disipează sau solubilizează amestecul solubilizabil, fluidul de eșantion-conjugat curge către tamponul de absorbție **63** până când un senzor de fundal sau un senzor posterior **18**, care este dispus vizavi de partea intermediară a benzii purtătoare **58**, detectează prezența fluidului eșantion-conjugat ca urmare a schimbării culorii benzii purtătoare poroase umezite **58**. Conform cu un aspect, pentru a crește acuratețea și pentru a reduce (sau pentru a elimina) calibrarea, dispozitivul de detectare **100** determină o relație între măsurătorile efectuate folosind mai mult de un senzor, care includ senzorul frontal **23** și senzorul posterior **18**, pentru a determina dacă este prezent fluidul de eșantion-conjugat.

25

30

Pentru a permite efectuarea măsurătorilor de către senzor, o diodă emițătoare de lumină (LED) **67** poate să fie dispusă sau montată pe partea inferioară a plăcii de circuit imprimat **19**, între senzorul posterior **18** și senzorul frontal **23**, pentru ca aceasta să ilumineze partea intermediară a benzii purtătoare poroase **58** pentru a reflecta lumina din aceasta către senzori. Iluminarea LED-ului **67** poate să producă lumină în domeniul vizibil al spectrului electromagnetic. Un LED alb poate să furnizeze măsurători mai precise, dar un alt LED colorat, cum ar fi LED-ul verde, poate să fie, de asemenea, utilizat ca LED iluminator **67**, în funcție de culoarea liniei formate în zona de formare a liniei **65**. Conform cu un exemplu de realizare, dispozitivul de detectare **100** poate să declanșeze LED-ul de iluminare **67** să se aprindă ori de câte ori trebuie citită o măsurătoare de la senzorul posterior **18** sau de la senzorul frontal **23**.

35

40

Zona de formare a liniei **65** poate să includă o regiune (*de exemplu*, o linie) din formată din unul sau din mai multe tipuri de anticorpi imobilizați, care se pot lega cu antigenii ploșnițelor de pat ai moleculelor de eșantion - conjugate în fluidul de eșantion -conjugat, care curge prin zona de formare a liniei **65**. Conform cu un exemplu de realizare, anticorpii imobilizați pot să includă partea de anticorpi anti-ploșnița de pat a anticorpilor anti-ploșnițe de pat conjugați pe sau în interiorul tamponului cu reactiv **61**. Pe măsură ce fluidul de eșantion-conjugat din tamponul cu reactiv **61** curge prin zona de formare a liniei **65** către tamponul de absorbție **63**, o cantitate mai mare de molecule de eșantion-conjugate poate să reacționeze în continuare cu (sau să se lege de) anticorpii imobilizați. Conform cu un exemplu de realizare în care particula conjugată este o particulă colorată cum ar fi aurul coloidal, pe măsură ce are reacția are loc pentru o perioadă de timp mai mare în zona de formare a liniei **65**, datorită unei prezențe mai mari a antigenilor de ploșniță în fluidul de eșantion, colorarea în zona de formare a liniei **65** poate să se intensifice la o rată mai mare. Conform cu un exemplu de realizare, în funcție de tipul de particule conjugate, în schimb, nivelul de luminescență sau de fluorescență se poate intensifica.

45

50

55

Senzorul posterior **18** (senzorul de fundal) și senzorul frontal **23** (senzorul de reacție) pot să fie montați pe partea inferioară a plăcii de circuit imprimat **19**. Senzorul frontal **23** poate să fie dispus chiar vizavi de zona care formează linia **65** a benzii de testare **16** pentru a capta o reflexie colorimetrică a reacției, *adică*, o intensitate a culorii zonei de formare a liniei **65**. Senzorul posterior **18** poate să fie dispus în apropierea zonei de formare a liniei **16** (dar nu direct peste zona de formare a liniei **16**) între zona de

60

formare a liniei **16** și tamponul de absorbție **63**. Conform cu un exemplu de realizare, senzorul posterior **18** poate să fie, în schimb, dispus între zona de formare a liniei **16** și tamponul cu reactiv **61**. Senzorul posterior **18** măsoară sau captează în mod similar intensitatea de culoare a regiunii benzii de testare dispusă vizavi de senzorul posterior **18**. Deși dispozitivul de detectare **100** poate să utilizeze numai citiri de la senzorul posterior **18** pentru a detecta prezența fluidului de eșantion - conjugat pe măsură ce acesta curge de-a lungul benzii de testare **16**, conform cu un exemplu de realizare îmbunătățit, dispozitivul de detectare poate să utilizeze citirile de măsurători atât de la senzorul posterior **18**, cât și de la senzorul frontal **23**. În mod similar, dispozitivul de detectare **100** poate să utilizeze citirile de la senzorul frontal **23** sau atât de la senzorul posterior **18** cât și de la senzorul frontal **23** pentru a determina dacă prezența ploșnițelor de pat este detectată din zona de formare a liniei **65**.

Fiecare dintre senzorul posterior **18** și senzorul frontal **23** poate să fie un senzor foto-optic care include, de exemplu, o celulă fotoconductivă sau un rezistor dependent de lumină, care variază rezistența în funcție de intensitatea luminii incidente detectată și măsurată datorită reflectanței difuze colorimetrică în zona de formare a liniei **65**. O reflectanță difuză colorimetrică măsurată poate să fie reprezentativă pentru intensitatea culorii din zona de formare a liniei **65**. De exemplu, pe măsură ce culoarea din zona de formare a liniei **65** se intensifică, mai multă lumină poate să fie absorbită de zona de formare a liniei **65**, adică mai puțină lumină poate să fie reflectată de zona de formare a liniei **65**, iar celula fotoconductivă poate să producă o rezistență crescută datorită unei intensități mai mici a luminii incidente. Conform cu un exemplu de realizare, senzorul foto-optic poate să includă o fotodiodă, care produce un curent de scurgere, care este direct proporțional cu intensitatea luminii incidente. În funcție de particula conjugată, pot să fie utilizate alte tipuri de senzori, cum ar fi un senzor cu efect Hall pentru captarea densității fluxului magnetic.

Sursa de alimentare indicată, în general, în regiunea de alimentare **41** este montată pe suprafața superioară a plăcii de circuit imprimat **19**. Regiunea de alimentare **41** poate să includă bateria **43**, care alimentează cu curent electric placa de circuit imprimat **19** și componentele acesteia care includ, de exemplu, LED-ul galben **27**, LED-ul verde **29**, LED-ul roșu **32**, senzorul posterior **18**, LED-ul de iluminare **65**, senzorul frontal **23** și procesorul **21**.

Procesorul **21** poate să fie montat pe suprafața superioară a plăcii de circuit imprimat **19** și programat pentru a începe detectarea prezenței ploșnițelor atunci când dispozitivul de detectare **100** este activat sau pornit. Procesorul **21** poate să includă porturi de intrare pentru recepționarea puterii și citirea măsurătorilor de la senzorul frontal **23** și de la senzorul posterior **18** și poate să includă porturi de ieșire pentru controlul LED-ului de iluminare **65** și LED-urile **32**, **27** și **29** ale afișajului rezultat **25**. Conform cu un exemplu de realizare, procesorul **21** poate să fie un microprocesor (de exemplu, un microcontroler pe 8 sau 16 biți) având capacități limitate de procesare și de memorie din cauza constrângerilor de dimensiune, de putere și de cost ale dispozitivului de detectare **100**. Pentru a detecta în mod eficient prezența ploșnițelor de pat, procesorul **21** având un hardware limitat dat poate să includă algoritmi stocați pentru procesarea eficientă a calibrării și pentru obținerea de rezultate precise privind detectarea ploșnițelor de pat. Conform cu un aspect, procesorul **21** poate să detecteze diferite tipuri de insecte dăunătoare sau o prezență mai mare decât un tip de insecte dăunătoare, care include ploșnița de pat.

FIGURILE de la 4 până la 6 prezintă diagrame care ilustrează configurații ale dispozitivului de detectare **100**. Așa cum este ilustrat, FIG.4 ilustrează o vedere în secțiune mărită a dispozitivului de detectare care este ilustrat în FIG.3 înainte ca capacul detașabil **14** să fie îndepărtat și dispozitivul de detectare **100** să fie alimentat. FIG.5 ilustrează o vedere în elevație în secțiune fragmentară a dispozitivului care este ilustrat în FIG.3 atunci când capacul detașabil **14** este îndepărtat. FIG.6 ilustrează o vedere în secțiune mărită a dispozitivului care este ilustrat în FIG.5 după ce capacul detașabil **14** a fost îndepărtat.

Conform cu un aspect, dispozitivul de acționare a comutatorului **47** sub forma unei benzi izolatoare **49** se extinde printr-o deschidere **52** într-o parte de perete unghiulară a carcasei **12** către comutatorul **45** atunci când capacul detașabil **14** este asamblat pe carcasa **12**, așa cum este prezentat în FIG.1 și în FIG.3. Atunci când capacul detașabil **14** este îndepărtat din carcasa **12**, așa cum este ilustrat în FIG.5, dispozitivul de acționare a comutatorului **47** poate să fie tras departe de comutatorul **45**, așa cum este ilustrat în FIG.4 și în FIG.6 pentru a permite ca bateria **43** să fie conectată electric la placa de circuit imprimat **19** pentru ca aceasta să alimenteze sau a să pornească dispozitivul de detectare **100**.

Deși dispozitivul de detectare **100**, așa cum este prezentat, poate să fie un dispozitiv de unică folosință care este precis și rapid în determinarea prezenței ploșnițelor de pat, conform cu un aspect, dispozitivul de detectare **100** poate să fie folosit drept dispozitiv cu utilizare multiplă. De exemplu, un dispozitiv de detectare cu utilizări multiple **100** poate să includă carcasa **12** care poate să fie dezasamblată după cum este ilustrat în FIG.2, pentru a permite înlocuirea benzii de testare **16** cu o bandă de testare nouă pentru efectuarea testelor suplimentare de testare a fluxului lateral. Banda izolatoare **49** a dispozitivului de acționare a comutatorului **47** poate să fie sub forma unei benzi rigide, confecționată din materiale adecvate, cum ar fi din materiale termoplastice sau din alte astfel de materiale. În acest sens, banda

izolatoare **49** poate să fie reintrodusă prin deschiderea **52** și sub bateria **43** pentru a decupla electric bateria **43** de pe placa de circuit imprimat **19**.

FIG.7 ilustrează o diagramă bloc **700** care ilustrează componentele din procesorul **700** ale unui dispozitiv de detectare, cum ar fi dispozitivul de detectare **100** care este ilustrat în FIGURILE de la 1 până la 3, conform cu un exemplu, procesorul **700** poate să fie o implementare, cu titlu de exemplu, a procesorului **21** care este ilustrat în FIG.2, în FIG.3 și FIG.5. Procesorul **702** poate să includă memoria **704**, porturile **714A** și **714B**, ceasul **728** și componentele **730-742**.

Porturile **714A** pot să fie porturi de intrare, care includ portul de alimentare **720**, care alimentează procesorul **702** de la o sursă de alimentare, cum ar fi de la bateria **43** a plăcii de circuit imprimat **19** care este ilustrat în FIG.2. Porturile de intrare **714A** pot să includă, în plus, portul sensorului frontal **716** și portul sensorului posterior **718**, care primesc măsurătorile senzor de la senzorul frontal **23** și, respectiv, de la senzorul posterior **18** care sunt ilustrați în FIG.2. Porturile **714B** pot să includă porturi de ieșire, destinate pentru ieșirea unui rezultat, care indică dacă procesorul **702** a întâmpinat o eroare și dacă procesorul **702** a determinat prezența unuia sau a mai multor dăunători care includ, de exemplu, ploșnițe de pat. După cum se arată, porturile de ieșire **714B** pot să includă portul LED galben **722**, portul LED verde **724** și portul LED roșu **726** pentru a controla LED-ul galben **27**, LED-ul verde **29** și LED-ul roșu **32** care este ilustrat în FIG.2, respectiv. Conform cu un exemplu de realizare, un singur port LED poate să controleze mai mult decât un singur LED.

Memoria **704** poate să includă registre, RAM, ROM, cache sau alte tipuri de memorie de stocare. Memoria **704** stochează profilul dăunătorilor **706**, parametrii de funcționare **712**, contorul **709** și citirile sensorului **713A** și **713B**. Parametrii de operare **712** pot să includă un prag de lichid, un prag de culoare și praguri minime și maxime pentru fiecare dintre senzorul frontal **23** și senzorul posterior **18**. Pragul de lichid poate să fie reprezentativ pentru o cantitate sau o concentrație inițială minimă de fluid de eșantion - conjugat care curge prin zona de formare a liniei **65**, care poate să fie necesară înainte ca procesorul **702** să continue să determine dacă sunt detectate ploșnițe de pat. Pragul de culoare poate să fie reprezentativ pentru o valoare a intensității culorii proporțională cu o cantitate sau cu o concentrație minimă de fluid de eșantion - conjugat, care curge prin zona de formare a liniei **65** care poate să fie necesară pentru a valida orice determinare finală de detectare făcută de procesorul **702**. Alți parametri de operare **712** pot să includă un domeniu de valori de putere (de exemplu, tensiuni de putere minimă și maximă) astfel încât oricare valoare de putere din afara intervalului va indica faptul că procesorul **702** nu este alimentat corespunzător prin portul de alimentare **720** precum și un domeniu al valorilor de senzor (de exemplu, valorile minime și maxime de senzor) astfel încât valorile senzorilor din afara domeniului senzorului vor fi invalidate. În funcție de tipul de senzor care s-a utilizat sau de metodologia de măsurare, valorile domeniului senzorului pot să fie, de exemplu, valori de rezistență, valori de curenți sau valori de tensiuni. De exemplu, un senzor poate să fie o fotodiodă (*adică* un dispozitiv care convertește lumina primită în curent) sau o celulă fotoconductivă (*adică* un dispozitiv care convertește lumina primită în rezistență). Valoarea măsurată a senzorului pentru fiecare tip de senzor poate să fie, de exemplu, o valoare a tensiunii.

Contorul **709** poate să fie un registru care este incrementat folosind ceasul **728** al procesorului **702**. O valoare de contor a contorului **709** poate să fie reprezentativă pentru o perioadă de timp sau pentru ciclurilor de ceas din momentul în care contorul **709** a fost activat sau inițializat. Conform cu un aspect, valoarea contorului poate să fie reprezentativă pentru o perioadă de timp din momentul în care **709** a fost șters sau resetat la 0 de către procesorul **702**.

Profilul dăunătorului **706** poate să includă praguri sau parametri configurați pentru caracteristicile de profil al unei insecte dăunătoare specifice, cum ar fi ploșnițele de pat, asociate cu profilul dăunătorului **706**. Conform cu un aspect, caracteristicile profilului pot să includă o perioadă de timp de testare și un interval al intensității culorii măsurată. Așa cum se arată, pragurile configurate includ pragul de intensitate **708** și pragul de timp de testare **710**, astfel încât procesorul **702** determină prezența unui dăunător atunci când procesorul **702** calculează o valoare a rezultatului care depășește pragul de intensitate **708** după ce valoarea contor a contorului **709** depășește pragul de timp de testare **710**. Conform cu un exemplu de realizare, pragul de intensitate **708** poate să includă o gamă de praguri de intensitate, cum ar fi un prag minim și un prag maxim, astfel încât procesorul **702** indică prezența detectată a dăunătorului numai atunci când o valoare a rezultatului calculat depășește sau satisface pragul maxim. Dacă valoarea calculată scade sub pragul minim, procesorul **702** poate să indice absența dăunătorului. Dar, dacă valoarea calculată se încadrează între pragurile minime și maxime, procesorul **702** poate să indice sau emită un rezultat nedeterminat pentru a reduce numărul de fals pozitive, *adică*, determinarea incorectă a prezenței dăunătorului. În mod similar, pragul de timp de testare **710** poate să includă un domeniu de praguri de timp de testare, cum ar fi un prag de timp de testare minim și un prag de timp de testare maxim. Conform cu un aspect, rezultatul testării determinat de procesorul **702** poate să fie exact numai dacă se utilizează măsurători între pragurile minime și maxime ale timpului de testare.

Conform cu un aspect, profilul dăunătorului **706** poate să includă două sau mai multe profiluri de dăunător pentru insectele dăunătoare respective. Fiecare profil de dăunător poate să includă, pentru cel

puțin o caracteristică a profilului, un domeniu de prag care nu se suprapune sau nu se intersectează cu un domeniu de prag corespunzător (*adică* cu domeniul de prag al acelorași caracteristici de profil) al oricărui alt profil de dăunător. De exemplu, profilul dăunătorului **706** poate să includă un profil de ploșnițe de pat și un profil de gândac de bucătărie. Profilul ploșnițelor de pat poate să fie configurat să includă, de exemplu, praguri de timp de testare **710** de 3 minute și de 5 minute și praguri de intensitate **708** care variază de la 18 până la 100. În schimb, profilul gândacului de bucătărie poate să includă praguri de intensitate **708** de la 15 până la 30 care se suprapun cu pragurile de intensitate ale profilului de ploșnițe de pat între 18 și 30. Dar, profilul gândacului de bucătărie poate să includă și praguri de timp de testare **710** de la 9 minute până la 10 minute care nu se suprapun cu niciunul dintre pragurile de timp de testare **710** ale tuturor celorlalte profiluri de dăunători **706**, care includ profilul ploșniței de pat (*de exemplu*, 9 la 10 minute nu se suprapun cu 3 - 5 minute în profilul ploșniței de pat).

Citirile senzorului **713A** și **713B** pot să stocheze citirile de senzor ale senzorului frontal **23** și respectiv ale senzorului posterior **18**. Conform cu un aspect, citirile senzorului **713A** și citirile senzorului **713B** pot să includă fiecare citirile inițiale ale senzorului și respectiv citirile ulterioare de senzor ale senzorului frontal **23** și respectiv ale senzorului posterior **18**. Conform cu un exemplu de realizare, o citire inițială a senzorului atât pentru senzorul frontal **23** cât și pentru senzorul posterior **18** poate să fie actualizată în funcție de momentul în care procesorul **702** execută componenta de verificare a culorii **740** (care va fi descrisă în cele ce urmează). Prin urmărirea citirilor ulterioare ale senzorului în asociere cu un timp urmărit de-a lungul procesului de detectare a dăunătorilor, procesorul **702** poate să determine și să detecteze dacă au fost îndeplinite două sau mai multe profiluri de dăunători **706** și poate să indice sau poată să emită rezultatele determinării respective. Conform cu un exemplu de realizare, profilul dăunătorului **706** este îndeplinit sau satisfăcut dacă fiecare prag configurat în cadrul aceleiași profil de dăunător **706** este îndeplinit.

Procesorul **702** poate să includă diverse componente **730-742** destinate pentru implementarea funcționalității de detectare a dispozitivului de detectare **100**. Pentru o înțelegere ușoară, descrierile componentelor care sunt ilustrate în FIG.7 se vor referi la FIGURILE de la 1 până la 3, care ilustrează exemple de structuri sau componente fizice ale dispozitivului de detectare **100**. O componentă a procesorului **702** poate să includă o selecție de operații stocate care, atunci când sunt executate în procesorul **702**, determină procesorul **702** să execute operațiile componente.

FIG.8 ilustrează o diagramă de flux a unei metode **800** pentru un algoritm generalizat, destinată pentru detectarea faptului dacă una sau mai multe insecte dăunătoare sunt prezente. Metoda **800** poate să fie efectuată prin procesarea logică în cadrul uneia sau mai multor componente, cum ar fi componentele **730-742** ale procesorului **702** care este ilustrat în FIG.7, care poate să cuprindă hardware (de exemplu, circuite, logică dedicată, logică programabilă, microcod etc.), software (de exemplu, instrucțiuni care rulează pe un dispozitiv de procesare) sau o combinație între acestea. Pentru ușurință în ceea ce privește modul de referire, descrierile următoarelor etape pot să se refere la componentele care sunt ilustrate în FIG.7 și structurile care sunt ilustrate în FIG.2.

În etapa 802, componenta de testare la pornire **732** activează dispozitivul de detectare **100**. Odată activat, dispozitivul de detectare **100** începe analiza unui test de debit lateral în ceea ce privește prezența unuia sau a mai multor insecte dăunătoare, care includ ploșnițele de pat. Componenta de testare la pornire **732** poate să activeze dispozitivul de detectare **100** atunci când, de exemplu, dispozitivul de detectare **100** este pornit sau alimentat. Componenta de testare la pornire **732** poate lansa suplimentar o secvență de auto-testare pentru a verifica starea de funcționare a dispozitivului de detectare **100**, descrisă în continuare cu referire la FIG.7 prezentată mai jos. Conform cu un exemplu de realizare, componenta de testare la pornire **732** aprinde sau declanșează clipirea intermitentă a unuia sau a mai multor LED-uri pentru a indica faptul că etapa **802** s-a efectuat. De exemplu, componenta de testare la pornire **732** poate acționa clipirea LED-ului verde **29** și a LED-ului galben **27**.

În etapa 804, la finalizarea etapei 802, componenta de testare la pornire **732** preia (sau solicită componenta de eșantionare **740** să preia) citirea inițială a senzorului frontal și citirea inițială a senzorului posterior. Aceste citiri inițiale pot să fie stocate în citirile senzorului **713 A** și **713B**.

În etapa 806, componenta de verificare a lichidului **734** verifică cantitatea inițială de lichid detectat care curge pe lângă zona de formare a liniei **65**. Lichidul poate să fie un fluid de eșantion - conjugat care curge de la tamponul cu reactiv **61** către tamponul de absorbție **63**, care s-a descris cu referire la FIG.2 mai sus. Deoarece detectarea vârfurilor și evaluarea profilului (așa cum este explicat cu referire la FIG.7 de mai jos) pot să fie critice în timp, dispozitivul de detectare **100** ar trebui să înceapă să urmărească timpul scurs numai atunci când s-a detectat că are loc un test de debit lateral. De exemplu, pe baza anticorului specific anti-ploșnițe de pat - conjugat și a concentrației acestuia în tamponul cu reactiv **61**, determinarea prezenței ploșnițelor de pat efectuată de procesorul **700** poate să fie valabilă numai într-un anumit interval de timp scurs de la inițierea testului de debit lateral.

În etapa 808, componenta de verificare a culorii **736** verifică dacă suficiente particule colorate dintr-un fluid de eșantion-conjugat au trecut zona de formare a liniei **65**. Conform cu un exemplu de

realizare în care este utilizat aur coloidal, aceasta poate să fie denumită verificarea "migrației aurului". Conform cu un exemplu de realizare, dacă prea puțin din fluidul de eșantion-conjugat a migrat dincolo de zona de formare a liniei **65**, atunci orice rezultat al evaluării ulterioare a profilului poate să fie invalid. Conform cu un exemplu de realizare, acest lucru se datorează faptului că procesorul **702** determină prezența ploșnițelor de pat, *adică*, un rezultat al testului satisface profilul ploșnițelor de pat, bazat pe cel puțin o intensitate de culoare detectată a zonei de formare a liniei **65**. Prin urmare, conform cu un exemplu, deși reziduurile de ploșnițe de pat pot să fie prezente în fluidul de eșantion - conjugat, intensitatea culorii zonei de formare a liniei **65** poate să nu atingă pragul de intensitate minimă, dacă nu este suficientă, de exemplu, aurul coloidal a trecut prin zona de formare a liniei **65**. Conform cu un aspect, componenta de verificare a culorii **736** poate să aprindă sau să acționeze clipirea unuia sau a mai multor LED-uri pentru a indica faptul că etapa 808 s-a efectuat. De exemplu, componenta de verificare a culorii **736** poate acționa clipirea intermitentă a LED-ului roșu **32** și clipirea intermitentă a LED-ului galben **27**.

În etapa 810, componenta de evaluare a profilului **742** determină un rezultat al evaluării profilului în cazul profilului dăunătorului **706**, cum ar fi un profil de ploșniță de pat. Conform cu un aspect, există un singur profil de evaluare. Conform cu un alt aspect, mai mult de un profil poate să fie configurat în profilul dăunătorului **706**, iar componenta de evaluare a profilului **742** determină un rezultat de evaluare a profilului pentru fiecare insectă dăunătoare având un profil de dăunător configurat. Rezultatul evaluării profilului poate să fie una dintre cele trei posibilități: prezența insectelor dăunătoare detectate, absența insectelor dăunătoare detectate și un rezultat nedeterminat.

Conform cu un aspect, dacă oricare dintre etapele de la 804 la 810 returnează un rezultat invalid, metoda **800** trece la etapa 818. În etapa 818, procesorul **702** poate controla unul sau mai multe LED-uri pentru ca să indice faptul că a apărut o eroare. De exemplu, procesorul **702** poate să pornească LED-ul galben **27**. Conform cu un aspect, LED-ul pornit poate continua să rămână aprins până când bateria **43** a dispozitivului de detectare **100** se epuizează.

Conform cu un aspect, etapele de la 812 până la 816 includ posibile ieșiri LED, care indică un rezultat valid al profilului dăunătorului din etapa 810. Conform cu un aspect, componenta de evaluare a profilului **742** poate să indice un rezultat al profilului dăunătorilor folosind o varietate de traductoare cu ieșire, care includ unul sau mai multe LED-uri, LCD-uri, difuzoare sau motoare cu feedback haptic. În etapa 812, când rezultatul evaluării profilului din etapa 810 este negativ sau a fost detectată absența insectelor dăunătoare, componenta de evaluare a profilului **742** aprinde LED-ul verde **29**. În etapa 814, atunci când rezultatul evaluării profilului din etapa 810 este nedeterminat, evaluarea profilului componenta **742** aprinde LED-ul verde **29** și LED-ul roșu **32**. Și în etapa 816, atunci când rezultatul evaluării profilului de la etapa 810 este pozitiv sau a fost detectată prezența insectelor dăunătoare, componenta de evaluare a profilului **742** aprinde LED-ul roșu **32**. Metoda **800** se termină în etapa 820.

FIGURILE de la 9 până la 13 prezintă diagrame de flux care detaliază diverse etape ale metodei **800**. Metodele **900-1300** pot să fie efectuate prin procesare logică în cadrul uneia sau a mai multor componente, cum ar fi componentele procesorului **702** care este ilustrat în FIG.7, care poate să cuprindă hardware (de exemplu, circuite, logică dedicată, logică programabilă, microcod etc.), software (de exemplu, instrucțiuni care rulează pe un dispozitiv de procesare) sau o combinație între acestea. Pentru ușurință în ceea ce privește referirea, descrierile etapelor care urmează pot să se refere la componentele care sunt ilustrate în FIG.7 și structurile care sunt ilustrate în FIG.2.

FIG.9 ilustrează o diagramă de flux a unei metode **900**. Metoda **900** detaliază operațiile din etapa 806, care verifică lichidul, conform unui exemplu de realizare. În etapa 902, componenta de verificare a lichidului **734** inițializează, setează la 0, resetează sau șterge contorul **709**.

În etapa 904, componenta de verificare a lichidului **734** solicită componenta de eșantionare **740** pentru a citi măsurătorile de la senzorul posterior **18** și de la senzorul frontal **23**. Componenta de verificare a lichidului **734** primește un rezultat calculat (Calc) sau o indicație a faptului că s-a produs o eroare, *adică*, rezultatul calculat este invalid. În cazul în care se constată că s-a produs o eroare, componenta de verificare a lichidului **734** returnează un rezultat invalid în etapa 914.

În etapa 906, componenta de verificare a lichidului **734** determină dacă rezultatul calculat primit depășește pragul de lichid în cadrul parametrilor de operare **712**. Dacă pragul de lichid a fost depășit, componenta de verificare a lichidului **734** returnează un rezultat valid în etapa 916. Un rezultat calculat care depășește pragul de lichid poate să indice faptul că are loc un test de debit lateral, de exemplu, pentru detectarea ploșnițelor de pat.

În etapa 908, componenta de verificare a lichidului **734** determină dacă timpul maxim (*de exemplu*, 24 ore) a trecut. Dacă da, componenta de verificare a lichidului **734** returnează un rezultat invalid în etapa 914.

În etapa 910, componenta de verificare a lichidului **734** determină dacă citirile inițiale ale senzorului frontal și posterior trebuie să fie reluate. Conform cu un exemplu de realizare, componenta de verificare a lichidului **734** determină dacă este satisfăcută următoarea inegalitate: " $|Citirea\ frontală - citire\ frontală\ inițială| > DRIFT$  și  $|Calc| < MIN$ ". O citire curentă a senzorului frontal care se depărtează prea

mult de citirea frontală inițială stocată, de exemplu, depășește o valoare DRIFT de 20, ar trebui recalibrată dacă rezultatul calculat (Calc) este mai mic de valoarea MIN., cum ar fi 3. Un rezultat calculat sub un minim specificat, de exemplu, 3, poate să indice faptul că rezultatul calculat este provocat de zgomot în măsurătorile senzorilor.

5 În etapa 912, componenta de verificare a lichidului **734** recalibrează senzorul frontal și senzorul posterior prin setarea citirilor inițiale frontală și inițială posterioară față de citirea frontală curentă și, respectiv, față de citirea posterioară curentă.

10 FIG.10 ilustrează o diagramă de flux a unei metode **1000**. Metoda **1000** detaliază operarea etapei 808 de verificare pentru suficiente particule colorate, cum ar fi pentru aurul coloidal. În etapa 1002, componenta de verificare a lichidului **734** inițializează, setează la 0, resetează sau șterge contorul **709**.

15 În etapa 1004, componenta de verificare a culorii **736** solicită componenta de eșantionare **740** pentru a citi măsurătorile de la senzorul posterior **18** și de la senzorul frontal **23**. Componenta de verificare a culorii **736** primește un rezultat calculat (Calc) sau o indicație a faptului că s-a constatat apariția unei erori, *adică*, rezultatul calculat este invalid. În cazul în care s-a constatat apariția unei erori, componenta de verificare a culorii **736** returnează un rezultat invalid în etapa 1018.

20 În etapa 1006, componenta de verificare a culorii **736** solicită componenta de detectare a vârfulor **738**. Componenta de detectare a vârfulor **738** verifică un vârf, iar componenta de verificare a culorii **736** primește rezultatul de detectare a vârfulor de la componenta de detectare a vârfulor **738**. Detectarea vârfulor este descrisă mai jos cu referire la FIG.12.

25 În etapa 1008, dacă rezultatul detectării vârfului indică faptul că nu a fost găsit niciun vârf, metoda **1000** trece la etapa 1012. În caz contrar, metoda **1000** trece la etapa 1010.

30 În etapa 1010, componenta de verificare a culorii **736** determină dacă rezultatul calculat (Calc) depășește parametrul PRAGUL DE CULOARE din parametrii de funcționare **712**. PRAGUL DE CULOARE poate să indice faptul că a fost detectată o cantitate sau o concentrație suficientă de particule colorate în fluidul de eșantion-conjugat care curge pe măsură ce testul de debit lateral progresează. Când rezultatul calculat depășește PRAGUL DE CULOARE, componenta de verificare a culorii **736** returnează un rezultat valid în etapa 1016. În caz contrar, metoda **1000** trece la etapa 1012 în care contorul **709** este incrementat. Conform cu un aspect, în loc de etapa 1012, contorul **709** poate să fie incrementat de ceasul **728**, în timp ce componenta de verificare a culorii **736** efectuează etapele 1004-1010 și 1014-1018.

35 În etapa 1014, componenta de verificare a culorii **736** verifică dacă valoarea contorului **709** depășește o ÎNTĂRZIERE MAX, *de exemplu*, 172 secunde sau un număr corespunzător de cicluri de ceas.

40 FIG.11 ilustrează o diagramă de flux a unei metode **1100**. Metoda **1100** care detaliază funcționarea componentei de eșantionare **740** (solicitată de una sau de mai multe etape ale metodei **800**, care este ilustrată în FIG.8) pentru a citi valorile senzorului și pentru a calcula rezultatele. Metoda **1100** începe la etapa 1102.

45 În etapa 1104, componenta de eșantionare **740** determină dacă timpul de eșantionare a trecut înainte de a lua citiri de la senzorul posterior **18** și de la senzorul frontal **23**. Conform cu un exemplu de realizare, un contor de eșantionare (care nu este figurat) din memoria **704** poate să crească fiecare ciclu de ceas și poate să reseteze în etapa 1106, după ce timpul de eșantionare a fost atins sau a fost depășit.

50 În etapa 1106, componenta de eșantionare **740** pornește LED-ul de iluminare **67**, astfel încât o măsurare a reflectanței optice poate să fie citită de senzorul frontal **23** și de senzorul posterior **18**. În etapa 1108, componenta de eșantionare **740** citește senzorul frontal **23** și senzorul posterior **18** și stochează măsurătorile citite în citirile senzorului **713A** și **713B**. La citirea sau stocarea măsurătorilor, componenta de eșantionare **740** stinge LED-ul de iluminare **67**. Conform cu un exemplu de realizare, metoda **1100** poate să omită etapele 1106 și 1110 pentru economisirea vitezei de procesare. Dar, poate să fie necesară mai multă putere pentru a menține iluminarea LED-ului **67** aprins pentru o perioadă mai lungă de timp.

55 În etapa 1112, componenta de eșantionare **740** verifică dacă fiecare citire a senzorului frontal **23** și a senzorului posterior **18** se află într-un interval de funcționare valid, așa cum este configurat în parametrii de operare **712**. De exemplu, componenta de eșantionare **740** poate verifica dacă sunt îndeplinite toate dintre următoarele condiții: citire senzorului frontal > SENZOR FRONTAL MIN, citire senzor posterior > SENZOR POSTERIOR MIN, citire senzor frontal < SENZOR FRONTAL MAX și citire senzor posterior < SENZOR POSTERIOR MAX. Variabilele cu majuscule indică valorile minime și maxime de prag pentru citirea măsurătorilor senzorului frontal și ale senzorului posterior. Conform cu un exemplu de realizare, dacă una sau mai multe condiții eșuează, metoda **1100** trece la etapa 1116 și returnează eroarea sau rezultatul invalid.

60 În etapa 1114, componenta de eșantionare **740** returnează un rezultat calculat valid calculat folosind citirile de măsurare atât ale senzorului posterior **18**, cât și ale senzorului frontal **23**. De exemplu, componenta de eșantionare **740** poate să calculeze rezultatul utilizând următoarea ecuație pentru rezultat:

$$\text{rezultat} = [(R_i/R) - (F_i/F)] * SF$$

în care,

Fi = citirea inițială a senzorului frontal **23**;

F = citirea curentă a senzorului frontal **23**;

Ri = citirea inițială a senzorului posterior **18**;

5 R = citire curentă a senzorului posterior **18**; și

SF = factor de scalare, unde factorul de scalare este un număr întreg pozitiv mare (*de exemplu*, 666) și este utilizat pentru a evita valori mai mici de unu în rezultatul calculat.

10 FIG. 12 ilustrează o diagramă de flux a unei metode **1200**. Metoda **1200** detaliază operarea etapei 1006 a metodei **1000**, care determină faptul dacă a fost găsit un vârf. Conform cu un aspect, vârful poate reprezenta o intensitate maximă de culoare a zonei de formare a liniei **65**, deoarece cea mai mare parte a fluidului de eșantion-conjugat a trecut prin zona de formare a liniei **65** către tamponul de absorbție **63**. După cum s-a descris mai sus, determinarea dacă un dăunător, cum ar fi ploșnițele de pat, este prezent în fluidul de eșantion-conjugat poate să fie un proces critic în timp. Conform cu un aspect, un rezultat de testare sau de evaluare determinat al profilului poate să fie valabil numai într-un interval specific de timp

15 scurs din momentul în care a fost detectat vârful.  
În etapa 1202, componenta de detectare a vârfului **738** primește un rezultat calculat (Calc) de la componenta de verificare a culorii **736**. În plus, în timpul unei prime iterații pentru etapa 1202, o valoare de vârf (Vârf) poate să fie inițializată la 0.

20 În etapa 1204, componenta de detectare a vârfurilor **738** determină dacă un vârf a fost găsit într-o iterație anterioară a metodei **1200**. Conform cu un aspect, în timpul unei prime iterații pentru etapa 1204, metoda **1200** poate să treacă la etapa 1206.

În etapa 1206, componenta de detectare a vârfului **738** compară rezultatul care a fost calculat cu vârful ca s-a obținut. Dacă rezultatul calculat depășește Vârful, metoda **1200** trece la etapa 1210, unde componenta de detectare a vârfului **738** atribuie Vârful rezultatului calculat curent.

25 În etapa 1208, componenta de detectare a vârfului **738** detectează dacă diferența dintre vârf și rezultatul calculat depășește valoarea de ZGOMOT, *de exemplu*, 9. Componenta de detectare a vârfurilor **738** poate să necesite implementarea unei etape de filtrare a zgomotului, cum ar fi etapa 1208, pentru a elimina detectarea vârfului fals pozitiv, *adică*, detectarea unui vârf care nu a fost atins.

30 În etapa 1212, dacă diferența dintre Vârf și rezultatul care a fost calculat depășește ZGOMOTUL, atunci componenta de detectare a vârfului **738** poate să fie mai sigură că un vârf a fost găsit. În iterațiile ulterioare ale metodei **1200**, etapa 1204 poate să indice faptul că un vârf a fost găsit anterior, *adică*, în etapa 1212 al unei iterații anterioare a metodei **1200**.

În etapa 1214, componenta de detectare a vârfurilor **738** returnează dacă a fost găsit un vârf.

35 FIG.13 ilustrează o diagramă de flux a unei metode **1300**. Metoda **1300** detaliază operațiile din etapa 810 a metodei **800**, care determină un rezultat de testare sau un rezultat de evaluare a profilului în cazul unui profil de dăunător. În etapa 1302, componenta de evaluare a profilului **742** inițializează, setează la 0, resetează sau șterge contorul **709**.

40 În etapa 1304, componenta de evaluare a profilului **742** solicită componenta de eșantionare **740** pentru a citi măsurătorile senzorului posterior **18** și ale senzorului frontal **23**. Componenta de evaluare a profilului **742** primește un rezultat calculat (Calc) sau o indicație privind faptul că s-a produs o eroare, *adică*, rezultatul calculat este invalid. În cazul în care s-a constatat că s-a produs o eroare, componenta de evaluare a profilului **742** returnează un rezultat invalid în etapa 1306.

45 În etapa 1308, componenta de evaluare a profilului **742** determină dacă contorul **709** a atins sau a depășit un parametru TIME THRESHOLD, cum ar fi pragul de timp de testare **710**, pentru profilul dăunătorului **706**. Conform cu un exemplu de realizare, parametrul TIME THRESHOLD este o perioadă de timp predeterminată care este specifică pentru un profil special de dăunător **706**. Dacă pragul de timp de testare **710** nu a fost atins, metoda **1300** trece la etapa 1304, unde valorile senzorului sunt reeșantionate.

50 În etapa 1310, componenta de evaluare a profilului **742** determină dacă rezultatul calculat primit din etapa 1304 a depășit un parametru MAX\_THRESHOLD, cum ar fi un prag de intensitate maximă al pragului de testare **708**, pentru profilul dăunătorului **706**. Dacă rezultatul calculat depășește MAX\_THRESHOLD, în etapa 1312, componenta de evaluare a profilului **742** determină faptul că profilul dăunătorului **706** a fost satisfăcut și a fost detectată prezența dăunătorului asociat cu profilul dăunătorului **706**.

55 În etapa 1314, componenta de evaluare a profilului **742** determină dacă rezultatul calculat primit din etapa 1304 scade sub un parametru MIN\_THRESHOLD, cum ar fi un prag de intensitate minimă al pragului de testare **708** pentru profilul dăunătorului **706**. Dacă rezultatul calculat nu depășește sau nu atinge pragul MIN\_THRESHOLD, în etapa 1316, componenta de evaluare a profilului **742** determină faptul că profilul dăunătorului **706** nu a fost satisfăcut și a fost detectată absența dăunătorului asociat cu profilul dăunătorului **706**.

60

În etapa 1318, componenta de evaluare a profilului **742** determină faptul că, datorită rezultatului calculat care se încadrează între `MIN_THRESHOLD` și `MAX_THRESHOLD`, rezultatul evaluării profilului este nedeterminat. Prin returnarea unei ieșiri nedeterminate, deși metoda **1300** poate să nu producă întotdeauna un rezultat definitiv, *adică*, să detecteze prezența sau absența, metoda **1300** reduce rezultatele pozitive false în detectarea dăunătorilor.

În etapa 1320, rezultatul determinat în etapa 1312, în etapa 1316 sau în etapa 1318 este returnat.

Conform cu un aspect, deși metoda **1300** a fost descrisă cu privire la un profil de dăunător, metoda **1300** poate să fie adaptată pentru a determina dacă mai multe profile de dăunător (*de exemplu*, din profilul dăunătorului **706**) sunt satisfăcute. Conform cu un aspect, componenta de evaluare a profilului **742** poate să fie configurată pentru executarea metodei **1300** pentru fiecare profil de dăunător configurat în profilul dăunătorului **706**, astfel încât un rezultat al evaluării profilului să fie determinat pentru fiecare profil configurat.

Revenind la FIG.7, fiecare componentă dintre componentele **730-742** este, în schimb, descrisă în cele ce urmează:

Componenta de configurare a profilului 730 configurează unul sau mai multe profile de dăunător **706** pentru a include praguri specifice, pentru caracteristicile profilului, în profilele dăunătorilor **706**. Pragurile pot să fie furnizate, de exemplu, de către un producător de dispozitiv de detectare **100**. Componenta de configurare a profilului **730** poate să fie o componentă opțională. Conform cu un aspect, dispozitivul de detectare **100** este pur și simplu pre-încărcat sau pre-configurat cu unul sau cu mai multe profile de dăunători **706**. Prin urmare, dispozitivul de detectare **100** poate rula un singur test de debit lateral și poate să detecteze prezența a mai mult de un dăunător.

Conform cu un aspect, dispozitivul de detectare **100** poate să includă o interfață de comunicație (*de exemplu*, un port USB sau un port de rețea) pentru primirea de noi profile de dăunător **706** sau de actualizări ale profilelor dăunătorilor **706**. De exemplu, dispozitivul de detectare **100** poate să includă un cip de rețea Bluetooth (care nu este figurat) cuplat la un port de rețea al procesorului **702** (*adică* procesorul 21 care este ilustrat în FIG.1) astfel încât un utilizator sau un producător de dispozitiv să poată adăuga sau programa noi profile la profilele dăunător **706**, să adauge caracteristici de profil la profilele existente ale dăunătorilor **706** sau să actualizeze una sau mai multe valori de prag în cadrul profilelor existente ale dăunătorilor **706**. Prin urmare, profilul dăunător **706** poate să fie dinamic configurat prin componenta de configurare a profilului **730** pentru analizarea unei benzi curente de testare încorporată **16** într-un test specific de debit lateral.

Componenta de testare la pornire 732 poate să determine când să activeze procesorul **702** pentru a începe detectarea prezenței unuia sau a mai multor dăunători. Conform cu un aspect, componenta de testare la pornire **732** poate să activeze procesorul **702** atunci când este detectat un semnal de activare. De exemplu, un semnal de activare poate să fie detectat atunci când procesorul **702** este alimentat (de exemplu, portul de alimentare **720** primește energie electrică) sau când lumina ambientală este detectată de cel puțin un senzor (de exemplu, citiri ale portului **716** al senzorului frontal sau ale portului **718** al senzorului posterior). Conform cu un exemplu de realizare, în timpul pornirii procesorului **702**, componenta de testare la pornire poate să inițializeze porturile **714** și registrele sau datele din memoria **704**.

După inițializare, componenta de testare la pornire **732** poate să lanseze o secvență de autotest pentru a verifica dacă parametrii de operare **712** sunt îndepliniți. De exemplu, componenta de testare la pornire **732** poate să parcurgă fiecare LED, controlat de procesorul **702**, pentru a determina dacă fiecare dintre LED-uri funcționează. Conform cu un exemplu de realizare, la pornire sau la inițializare, secvența de autotest poate să includă determinarea faptului dacă o lumină ambientală detectată este peste un prag stocat în parametrii de funcționare **712**. Componenta de testare la pornire **712** poate să comande unul sau mai multe LED-uri să declanșeze clipirea intermitentă sau să lumineze pentru indicarea unui progres prezent sau a unui rezultat al autotestării. Când autotestul se termină, componenta de eșantionare **740** poate să solicite efectuarea unei citiri inițiale a senzorului frontal **23** și a unei citiri inițiale a senzorului posterior **18**.

Componenta de verificare a lichidului 734 poate să detecteze dacă un test de debit lateral s-a efectuat, în prezent, pe banda de testare **16**, care este ilustrat în FIG. 2, pe baza măsurătorilor care s-au citit la portul **716** al senzorului frontal sau la portul **718** al senzorului posterior. Așa cum este descris cu referire la FIG. 2, o citire de la un senzor poate să fie o valoare de tensiune (voltaj) reprezentativă pentru o reflectanță optică a luminii incidente, *de exemplu*, intensitatea culorii, detectată de senzor. Conform cu un exemplu de realizare, componenta de verificare a lichidului **734** poate să apeleze sau să solicite componenta de eșantionare **740**. Componenta de eșantionare **740** citește la unul sau la mai mulți senzori astfel încât să obțină citirile măsurătorilor, care sunt utilizate pentru a calcula un rezultat, care este utilizat de componenta de verificare a lichidului **734** pentru a calibra senzorul frontal **23** și senzorul posterior **18**, așa cum s-a explicat mai sus cu referire la FIG.9.

Într-o operare obișnuită a testului de debit lateral pe banda de testare **16**, fluidul de eșantion poate să curgă din fitilul **56**, prin tamponul cu reactiv **61** și dincolo de zona de formare a liniei **65** către tamponul de absorbție **63**. Conform cu un exemplu de realizare, componenta de verificare a lichidului **734** primește un rezultat calculat de la componenta de eșantionare **740**. Componenta de eșantionare **734** poate să compare, apoi, rezultatul calculat cu pragul de lichid în parametrii de operare **712** înainte de a decide procesarea cu algoritmul sau procesul de detectare. Atunci când rezultatul calculat depășește pragul lichidului, cel puțin o parte din fluidul de eșantionare a atins partea benzii de testare **16** opusă senzorului frontal **23** sau senzorului posterior **18**. Componenta de verificare a lichidului **734** poate să utilizeze în continuare rezultatul calculat care a fost primit pentru a calibra citirile inițiale ale senzorului frontal și ale senzorului posterior (de exemplu, se reinițializează citirile inițiale ale senzorului) dacă o citire curentă a senzorului frontal se abate de la citirea inițială anterioară senzorului frontal și rezultatul calculat este aproape de 0, ceea ce indică faptul că nu este detectat niciun lichid de fluid.

Componenta de verificare a culorii 736 poate să detecteze dacă o cantitate suficientă de particule colorate din tamponul cu reactiv **61** a trecut prin zona de formare a liniei **65** vizavi de senzorul frontal **23**. Conform cu un aspect, dacă nu sunt suficiente particule colorate care să migreze sau să curgă dincolo de zona de formare a liniei **65**, este posibil să nu fie suficiente molecule de eșantion-conjugate pentru a fi captate. Ca urmare, procesorul **702** poate să detecteze un negativ fals (*adică* poate să detecteze absența uneia sau a mai multor insecte dăunătoare, deși ar putea să fie prezentă numai o insectă dăunător). Componenta de verificare a culorii **736** poate să solicite sau să apeleze componenta de eșantionare **740**. Componenta de eșantionare **740** citește la senzorul frontal **23** și la senzorul posterior **18** pentru obținerea citirilor senzorilor. Citirile sunt solicitate de către componenta de verificare a culorii **736** pentru a decide dacă a fost detectată o cantitate suficientă de particule colorate. Conform cu un aspect, componenta de verificare a culorii **736** poate să fie solicitată să declanșeze executarea atunci când componenta de verificare a lichidului **734** detectează fluidul de eșantion.

Conform cu o operare obișnuită a testului de debit lateral, pe măsură ce mai mult fluid de eșantion - conjugat curge prin zona care formează linia **65**, particulele colorate (de exemplu, particule de aur coloidal) din fluidul de eșantion - conjugat pot să intensifice colorarea detectată de senzorul frontal **23** pe zona opusă de formare a liniei **65**. Când cea mai mare parte a fluidului de eșantion - conjugat a migrat către tamponul absorbant **63**, pot să fie detectate tot mai puține particule colorate care trec prin zona de formare a liniei **65**. Componenta de verificare a culorii **736** poate să utilizeze un rezultat, care s-a calculat din componenta de eșantionare solicitată **740** pentru a determina o intensitate maximă a colorării, ceea ce indică faptul că cea mai mare parte a fluidului de eșantion - conjugat a migrat dincolo de zona de formare a liniei **65**. Componenta de verificare a culorii **736** poate să solicite sau să apeleze componenta de detectare – a vârfului **736** pentru efectuarea detectării vârfului.

Componenta de eșantionare 740 poate să verifice dacă senzorul frontal **23** și senzorul posterior **18** funcționează corect înainte de a citi senzorii pentru a calcula un rezultat. Conform cu un aspect, după o întârziere de eșantionare, componenta de eșantionare **740** poate să eșantioneze și să stocheze citirile de la senzorul frontal **23** și de la senzorul posterior **18** în citirile senzorului **713A** și respectiv **713B**. Componenta de eșantionare **740** poate, de asemenea, să stocheze un rezultat, care a fost calculat, în memoria **704**. Conform cu un exemplu de realizare, componenta de eșantionare **740** poate să decidă dacă un senzor funcționează corect prin verificarea faptului că o valoare de citire a senzorului se află între pragurile de funcționare pentru senzorul definit în parametrii de operare **712**.

Conform cu un aspect, componenta de eșantionare **740** poate să calculeze un rezultat conform următoarei ecuații:

$$\text{rezultat} = [(R_i/R) - (F_i/F)] * SF$$

în care,

$F_i$  = citirea inițială a senzorului frontal **23**;

$F$  = citirea curentă a senzorului frontal **23**;

$R_i$  = citirea inițială a senzorului posterior **18**;

$R$  = citire curentă a senzorului posterior **18**; și

$SF$  = factor de scalare, unde factorul de scalare este un număr întreg pozitiv mare (*de exemplu*, 666) și este utilizat pentru a evita valori mai mici de unu în rezultatul calculat.

Conform cu un aspect, ecuația furnizată: "rezultat =  $[(R_i/R) - (F_i/F)] * SF$ " poate să fie utilizată de către componenta de verificare a lichidului **734**, de către componenta de verificare a culorii **736**, precum și de către componenta de evaluare a profilului **742**.

Conform cu un aspect, luând în considerare relația dintre citirile inițiale și citirile curente ale senzorului atât ale senzorului frontal **23**, cât și ale senzorului posterior **18** înainte de testare, rezultatul calculat ia în considerație condițiile de mediu pentru a furniza un rezultat de testare mai precis. Aspectele care descriu utilizarea și avantajele furnizate de ecuația prezentată mai sus sunt descrise în brevetul de

invenție U.S. No. 7.499.170 B2 intitulat "System and Method for Reading a Test Strip". În funcție de tipul de senzori utilizați, rezultatul calculat poate să utilizeze o ecuație modificată. De exemplu, conform cu un aspect, în care un senzor este o fotodiodă, poate să fie utilizată, în schimb, următoarea ecuație: rezultat = [(R/Ri) - (F/Fi)] \* SF.

5 De exemplu, în timpul inițializării și înainte de testare, atât senzorul frontal **23**, cât și senzorul posterior **18** pot furniza un răspuns proporțional sau citiri ale măsurătorilor și ambii senzori pot urmări, într-un mod similar, deoarece ambii senzori sunt expuși la aceleași condiții de mediu și ambii senzori sunt expuși la o sursă de lumină similară, *adică*, LED-ul de iluminare **67**. Pentru a clarifica ce înseamnă expresiile "răspuns proporțional" și "urmărire într-un mod similar", presupunem că ambii senzori sunt  
10 expuși la o sursă de lumină cu o anumită lungime de undă și intensitate. De asemenea, presupunem că distanța dintre ambii senzori și sursa de lumină este similară. Lumina ar determina ca fiecare senzor să producă un răspuns de ieșire sau o măsurătoare de citire în intervalul de operare special al fiecărui senzor. Un răspuns de ieșire poate să fie mai mare sau mai mic decât celălalt răspuns de ieșire fără să afecteze rezultatul testării. Acum aceiași doi senzori s-au luat și s-au expus la o sursă de lumină având aceeași  
15 lungime de undă, dar cu o intensitate mai mică. Răspunsul de ieșire al fiecărui senzor poate să fie mai mic decât răspunsul de ieșire anterior, ceea ce înseamnă că aceștia urmăresc într-un mod similar.

Componenta de evaluare a profilului 742 poate să compare sau să adapteze un rezultat calculat sau un rezultat calculat stocat în raport cu profilul de dăunător **706** pentru a determina dacă unul sau mai multe profile de dăunător din profilul dăunător **706** au fost satisfăcute. Componenta de evaluare a  
20 profilului **742** poate să apeleze sau să solicite componenta de eșantionare **740** să calculeze sau să obțină rezultatul calculat. Conform cu un exemplu de realizare, pentru fiecare profil configurat în profilul de dăunător **706**, componenta de evaluare a profilului **742** poate să aștepte un timp minim în cadrul pragului de timp de testare **710** înainte de a compara rezultatul calculat cu fiecare profil în parte. Acest lucru permite obținerea unui rezultat de evaluare a profilului pentru fiecare insectă dăunătoare. Întârzierea poate să fie necesară pentru ca suficiente molecule de eșantion - conjugate să reacționeze cu anticorpii  
25 imobilizați în zona de formare a liniei **65**, astfel încât componenta de evaluare a profilului **742** să poată determina un rezultat valid.

Conform cu un aspect, componenta de evaluare a profilului **742** poate să compare rezultatul calculat cu, de exemplu, un prag de intensitate maximă din profilul dăunătorului **706**. Aceasta va permite stabilirea deciziei dacă s-a detectat prezența unei insecte dăunător asociată cu profilul dăunătorului **706**. Alte comparații pot să fie făcute în funcție de caracteristicile profilului care sunt stocate în profilele dăunătorilor **708**. De exemplu, o caracteristică de profil poate să includă rata de modificare a intensității  
30 luminii.

Pentru a stabili dacă un profil de dăunător al profilurilor de dăunător **706** a fost îndeplinit, componenta de evaluare a profilului **742** poate să facă ca porturile de ieșire **714** să aprindă unul sau mai  
35 multe LED-uri. Aceasta indică un rezultat al evaluării profilului. De exemplu, componenta de evaluare a profilului **742** poate să alimenteze sau să aprindă LED-ul roșu **32** pentru indicarea prezenței detectată a ploșnițelor de pat. Adică, rezultatul evaluării profilului este pozitiv, ceea ce indică faptul că profilul dăunătorului **506** al ploșnițelor de pat a fost îndeplinit. În schimb, componenta de evaluare a profilului  
40 **742** poate să aprindă LED-ul verde **29** atunci când detectează absența ploșnițelor de pat, *adică*, rezultatul evaluării profilului este negativ. Conform cu un exemplu de realizare, componenta de evaluare a profilului **742** poate să producă un rezultat (*de exemplu*, aprinzând atât LED-ul verde **29** cât și LED-ul roșu **32**) pentru indicarea faptului că rezultatul evaluării profilului a fost nedeterminat.

Conform cu un aspect, componenta de evaluare a profilului **742** poate să indice un rezultat al  
45 evaluării profilului pentru fiecare profil de dăunător configurat în cadrul profilului de dăunător **706**. De exemplu, afișarea rezultatelor **25** poate să includă un dispozitiv bazat - pe LED pentru fiecare profil configurat care este comandat să aprindă sau să schimbe la o anumită culoare pentru a indica fiecare rezultat specific al evaluării profilului. Conform cu un aspect, componenta de evaluare a profilului **742**  
50 poate să afișeze un grad de severitate al prezenței detectate a unei insecte dăunătoare pe baza intensității colorării zonei de formare a liniei **65**.

FIG.14 prezintă o diagramă care ilustrează rezultatele, cu titlu de exemplu, care s-au obținut conform cu testele de debit lateral ale eșantionului, analizate de componentele dispozitivului de detectare  
55 **100**, care este ilustrat în FIG. 2. 1. După cum se arată, tabelul cu valorile intensității infestării din stânga ilustrează rezultatele calculate pentru șase teste de debit lateral ale eșantionului care s-au efectuat folosind același dispozitiv de detectare, cum ar fi dispozitivul de detectare **100** care este ilustrat în FIG.1. Pentru fiecare test de analiză, componenta de eșantionare **740** poate să stocheze rezultatele calculate pentru trei  
timpuri de eșantionare: 3 minute, 5 minute și 10 minute.

Conform cu un aspect, profilul dăunătorilor **706** poate să includă un profil de ploșnițe de pat care, de exemplu, include: un prag de intensitate minimă de 9, un prag de intensitate maximă de 15 și un  
60 prag de timp de testare cuprins între 4 minute și 6 minute. De exemplu, pragul de timp de testare poate să fie de 5 minute. Acest prag de timp de testare reprezintă un timp predeterminat specific profilului de

ploșnițe de pat. Rezultatele eșantioanelor din testele de analiză 1-3 depășesc pragul de intensitate maximă la marcajul de 5 minute. Rezultatul pe eșantion al testului de analiză 6 se încadrează între pragurile de intensitate minimă și maximă. Și, rezultatul calculat al testului de analiză 5 scade sub pragul minim de intensitate. Prin urmare, componenta de evaluare a profilului 742 poate să comande LED-urile pentru a indica prezența ploșnițelor de pat în cazul testelor de analiză 1-3, absența ploșnițelor de pat în cazul testului de analiză 5 și un rezultat nedeterminat pentru testul de analiză 6. Conform cu un aspect, un profil de ploșnițe de pat poate să includă praguri de severitate, astfel încât rezultatele evaluării profilului pentru testele de analiză 1-3 să indice o severitate medie, o severitate scăzută și, respectiv, o severitate ridicată. Unul sau mai multe LED-uri pot să fie comandate pentru ca să indice severitatea nivelurilor de infestare, de exemplu, aprinzând, declanșând clipirea intermitentă la o anumită rată sau emițând lumină la o anumită intensitate.

Conform cu un aspect, profilul dăunătorilor 706 poate să includă profilul de ploșnițe de pat descris și un profil de gândac de bucătărie care include, de exemplu, un prag de intensitate minimă de 11, un prag de intensitate maximă de 14 și un prag de timp de testare cuprins între 9 minute și 11 minute. Deși la timpul de eșantionare 10 minute, testele de analiză 1-3 și 6 pot să depășească fiecare pragul de intensitate maximă de 14, componenta de evaluare a profilului 742 poate să indice numai o prezență detectată de gândaci de bucătărie pentru testul de analiză 6. Prin urmare, conform cu un anumit aspect, procesorul 702 poate să fie un detector de dăunători de insecte prioritar. Tipurile de dăunători eventual detectați pot să fie prioritizate pe baza pragurilor de timp de testare de la cea mai mică întârziere până la cea mai mare întârziere. De exemplu, procesorul 702 poate să fie configurat pentru a detecta mai întâi dacă ploșnițele de pat sunt prezente, la timpul de eșantionare de 5 minute înainte de a detecta în cel de-al doilea rând dacă sunt prezenți gândacii în timpul de eșantionare de 10 minute.

Pentru a testa în câmp eficacitatea dispozitivului de detectare 100 care este ilustrat în FIG.1, care cuprinde procesorul 702 care este ilustrat în FIG.7 și care funcționează conform metodelor care sunt ilustrate în FIGURILE de la 8 până la 13, au fost testate 17 paturi infestate cu ploșnițe de pat. Conform cu acest test în câmp, fiecare dintre cele 17 paturi a fost confirmat vizual că conține cel puțin 10 ploșnițe de pat vii. Conform cu acest exemplu de testare în câmp, a fost creat un fluid de eșantion pentru fiecare dintre cele 17 paturi și acesta s-a aplicat dispozitivului de detectare 100 pentru detectarea infestației anterioare sau prezente cu ploșnițe de pat. Pe scurt, așa cum s-a descris în raport cu FIG.1, fluidul de eșantion fost creat prin utilizarea mai întâi a unui material de tamponare și a unei proceduri standardizate de colectare pentru a tampona fiecare pat și apoi imersarea materialului de tamponare într-un tampon de extracție.

Conform cu acest exemplu de test în câmp, rezultatul detectării ploșnițelor de pat, pentru fiecare dintre cele 17 paturi, a fost generat și afișat după 10 minute. După cum s-a discutat mai sus cu privire la profilul dăunătorilor 706, acest timp de testare de 10 minute este o perioadă de timp specifică ploșnițelor de pat, cu titlu de exemplu. Prin implementarea metodelor, care este ilustrată în FIGURILE de la 8 până la 13, dispozitivul de detectare 100 a detectat infestarea anterioară sau prezentă cu ploșnițe de pat în 13 din cele 17 paturi infestate cu ploșnițe de pat. Astfel, acest exemplu de test în câmp evidențiază faptul că, prin utilizarea dispozitivului de detectare 100, un operator pentru combaterea dăunătorilor poate să determine infestarea cu ploșnițe de pat la fața locului și într-un interval de timp scurt, de exemplu, în 10 minute, cu mare precizie. Operatorul pentru combaterea dăunătorilor nu ar trebui să se bazeze pe metodele actuale de detectare, cum ar fi obținerea unui eșantion de reziduuri suspectate de ploșnițe de pat care urmează să fie testat la un laborator de testare în afara amplasamentului, ceea ce necesită adesea perioade de timp de la 24 până la 48 de ore pentru a obține rezultatul testării.

Oricare dintre aspectele de mai sus poate să includă următorii anticorpi monoclonali anti-ploșnițe de pat sau fragmente care leagă-antigenul acestora, mutanți, anticorpi conjugați sau fragmente care leagă-antigenul conjugat, compoziții, kit-uri, hibridoame, polinucleotide, polipeptide, vectori, celule sau metode, așa cum este dezvoltat în cererea de brevet de invenție provizorie U.S. No. 62/244.189 înregistrată pe data de 21 octombrie, 2015, intitulată "Anti-bed bug monoclonal antibodies and methods of making and uses thereof"

### Terminologie

Așa cum este utilizat în prezenta dezvoltare, termenul "ploșniță de pat" se referă la oricare dintre speciile *Cimex* sau tulpina acestora.

Termenii "anticorp" și "anticorpi" sunt termeni tehnici și pot să fie utilizați în prezenta dezvoltare interschimbabil pentru a se referi la o moleculă sau la molecule având un situs de legare-a antigenului, care leagă în mod specific un antigen.

Termenul "anticorp monoclonal" se referă la o populație omogenă de anticorpi care este implicată în recunoașterea specifică și legarea unui singur determinant antigenic, sau epitop. Acest lucru este în contrast cu anticorpii policlonali care includ de obicei anticorpi diferiți direcționați împotriva diferiților determinanți antigenici. Mai mult, termenul "anticorp monoclonal" se referă la astfel de

anticorpi generați în orice număr de moduri, care includ, dar fără a se limita la, prin hibridom, selecție de fagi, exprimare recombinantă și animale transgenice.

Termenul "fragment care leagă-antigenul" se referă la o parte a unui anticorp care este capabilă să se lege în mod specific la un antigen. Exemplele de fragmente de anticorpi includ, dar nu se limitează la, fragmente de regiune variabilă a lanțului greu, fragmente de regiune variabilă a lanțului ușor, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, fragmente scFv, fragmente Fv, anticorpi liniari, anticorpi monocatenari, anticorpi multispecifici, minicorpi, diacorpi, triacorpi și tetracorpi.

Termenii "regiune variabilă" sau "domeniu variabil" sunt termeni tehnici și pot să fie utilizați în mod interschimbabil în prezenta dezvoltare pentru a se referi la o parte a unui anticorp care diferă în mod extins ca secvență între anticorpi și este utilizat în legarea și specificitatea unui anumit anticorp pentru antigenul special al acestuia. Regiunile variabile ale lanțului greu și ale lanțului ușor constau fiecare din patru regiuni cadru (FR) conectate prin trei regiuni determinante de complementaritate (CDR), cunoscute și ca regiuni hipervariabile. CDR-urile din fiecare lanț contribuie la formarea situs-ului de legare-a antigenului anticorpilor.

Termenul "se leagă în mod specific" se referă la molecule care se leagă la un antigen (de exemplu, epitop sau complex imun), așa cum o astfel de legare este înțeleasă de un specialist în domeniu. De exemplu, o moleculă care se leagă în mod specific la un antigen se poate lega la alte peptide sau polipeptide, în general cu afinitate mai mică, așa cum este determinată, de exemplu, prin imunoteste, BIAcore®, instrument KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Boise, ID) sau alte teste cunoscute în domeniu.

Așa cum este utilizat în prezenta dezvoltare, termenul "detectare" cuprinde detectarea cantitativă și calitativă.

Așa cum este utilizat în prezenta dezvoltare, termenul "cantitate eficientă" se referă la cantitatea care realizează un efect dorit.

Așa cum sunt utilizați în prezenta dezvoltare, termenii "celulă gazdă" și "celulă" pot să fie utilizați interschimbabil și se pot referi la orice tip de celulă, de exemplu, o celulă primară, o celulă în cultură sau o celulă dintr-o linie celulară, inclusiv un hibridom.

Un anticorp, un fragment care leagă-antigenul, o celulă gazdă și o celulă la care se face referire în prezenta dezvoltare include forme "izolate" care au fost separate sau recuperate dintr-o componentă a mediului lor nativ, cum ar fi separarea sau îndepărtarea de contaminanții care ar interfera cu utilizările anticorpului, fragmentului care leagă-antigenul, celulei gazdă sau celulei, în care astfel de contaminanți pot să includă enzime, hormoni și alte materiale proteice sau neproteice.

În metodele și dispozitivele conform prezentei invenții este utilizat un anticorp generat de hibridomul depus la autoritatea American Type Culture Collection (ATCC) sub numărul de acces PTA-122644, sau un fragment care leagă-antigenul acestuia. Anticorpul monoclonal anti-ploșniță de pat desemnat în prezenta dezvoltare prin simbolul BB2 este generat de hibridomul care a fost depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644.

În metodele și dispozitivele definite conform prezentei invenții este utilizat un anticorp generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub Numărul de Acces PTA-122645, sau de un fragment de legare-a antigenului acestuia. Anticorpul monoclonal anti-ploșniță de pat desemnat în prezenta dezvoltare prin simbolul BB7 este generat de hibridomul care a fost depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645.

În metodele și dispozitivele definite conform prezentei invenției se utilizează un anticorp monoclonal sau un fragment care leagă-antigenul acestuia care cuprinde regiunile de determinare a complementarității lanțului greu și ale lanțului ușor (CDR) ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7] (vezi, de exemplu, comentariul despre CDR-uri în Kabat și colaboratorii, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983), și

Chothia și colaboratorii, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Metodele pentru determinarea CDR-urilor sunt binecunoscute, care includ o abordare bazată pe variabilitatea secvenței între specii (adică, Kabat și colaboratorii, Sequences of Proteins of Immunological Interest, (ed. a 5-a, 1991, National Institutes of Health, Bethesda, MD)), și o abordare bazată pe studiile cristalografice ale complexelor antigen-anticorp (Al-lazikani și colaboratorii, J. Molec. Biol. 273:927-948 (1997)). În plus, combinațiile acestor două abordări pot să fie utilizate pentru a determina CDR-urile. De asemenea, CDR-urile pot să fie determinate conform cu Lefranc M-P, The Immunologist 7: 132-136 (1999); Lefranc M-P, și colaboratorii, Nucleic Acids Res 27: 209-212 (1999); MacCallum RM și colaboratorii, J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996); Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains", în Antibody Engineering, Kontermann and Dübhel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)); și software-ul de modelare a anticorpilor AbM de la Oxford Molecular (Oxford Molecular Group, Inc.).

În metodele și dispozitivele definite conform prezentei invenții se utilizează un anticorp sau un fragment care leagă-antigenul acestuia, care cuprinde regiunile variabile ale lanțului greu și ale lanțului ușor ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de hibridomul care a fost depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. În general, o regiune variabilă este situată la aproximativ de la 110 până la 120 de aminoacizi amino-terminali în lanțul greu matur și aproximativ de la 90 până la 115 aminoacizi în lanțul ușor matur.

În metodele și dispozitivele definite conform prezentei invenții se utilizează un anticorp sau un fragment care leagă - antigenul al acestuia, care cuprinde lanțurile grele și lanțurile ușoare ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Fiecare lanț greu cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu și o regiune constantă a lanțului greu. Regiunea constantă a lanțului greu cuprinde trei domenii, CH1, CH2 și CH3. Fiecare lanț ușor cuprinde o regiune variabilă a lanțului ușor și o regiune constantă a lanțului ușor. Regiunea constantă a lanțului ușor cuprinde un domeniu (CL1).

Anticorpii monoclonali pot să fie, dar nu sunt limitați la, anticorpi generați în mod recombinant, anticorpi umani, anticorpi umanizați, anticorpi himerici, anticorpi multispecifici cum ar fi anticorpi bispecifici, proteine de fuziune care cuprind o parte de determinare a antigenului al unui anticorp și orice altă moleculă de imunoglobulină modificată care cuprinde un situs de recunoaștere a antigenului atâta timp cât anticorpii prezintă activitatea dorită. Anticorpii pot să fie de orice tip (*de exemplu*, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA sau IgY), orice clasă (*de exemplu*, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub>, sau IgA<sub>2</sub>), sau orice subclasă (*de exemplu*, IgG<sub>2a</sub> sau IgG<sub>2b</sub>) a moleculei de imunoglobulină. Tehnicile pentru generarea de anticorpi vor fi evidente pentru un specialist în domeniu.

Anticorpii monoclonali pot să fie generați, de exemplu, folosind metode de hibridom, cum ar fi acelea descrise de Kohler și Milstein, Nature 256:495 (1975). Folosind metoda hibridomului, un șoarece, un hamster sau un alt animal gazdă adecvat este imunizat pentru a determina generarea anticorpilor de către limfocite, care se vor lega, în mod specific, la un antigen de imunizare. Limfocitele pot să fie, de asemenea, imunizate *in vitro*. După imunizare, limfocitele sunt izolate și condensate cu o linie celulară de mielom adecvată folosind, de exemplu, polietilen glicol, pentru a forma celule de hibridom care pot să fie apoi selectate din limfocitele necondensate și celulele de mielom.

Anticorpii monoclonali pot să fie, de asemenea, generați folosind metodele ADN recombinant așa cum este descris în brevetul de invenție U.S. No. 4.816.567. Polinucleotidele care codifică un anticorp monoclonal sunt izolate din celule B mature sau din celule hibridom, cum ar fi prin RT-PCR utilizând primeri oligonucleotidici care amplifică, în mod specific, genele care codifică lanțurile grele și lanțurile ușoare ale anticorpului, iar secvența lor este determinată folosind proceduri convenționale. Polinucleotidele izolate, care codifică lanțurile grele și lanțurile ușoare sunt apoi clonate în vectori de exprimare adecvați, care permit generarea de anticorpi monoclonali atunci când sunt transfectate în celule gazdă, care includ, dar fără a se limita la, celule *E coli*, celule COS simiene, celule ovariene de hamster chinezesc (CHO) sau celule de mielom. De asemenea, anticorpii monoclonali recombinanți sau fragmente ale acestora din speciile dorite pot să fie izolați din bibliotecile de prezentare a fagilor care exprimă CDR-urile speciilor dorite. (*a se vedea*, de exemplu, McCafferty și colaboratorii, Nature 348:552-554 (1990); Clackson și colaboratorii, Nature 352:624-628 (1991); și Marks și colaboratorii, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)).

Fragmentele de legare-a antigenului din exemplele de realizare pot să fie generate folosind orice metodă cunoscută și includ o parte dintr-un anticorp care este capabil să se lege, în mod specific, la un antigen. Exemplele de fragmente de anticorpi includ, dar nu sunt limitate la, fragmente de regiune variabilă a lanțului greu, fragmente de regiune variabilă ale lanțului ușor, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, fragmente scFv, fragmente Fv, anticorpi liniari, anticorpi monocatenari, anticorpi multispecifici, minicorpi, diacorpi, triacorpi și tetracorpi (*a se vedea*, de exemplu, Hudson și Souriau, Nature Med. 9: 129-134 (2003) și brevetul de invenție U.S. No. 5.641.870). În mod tradițional, aceste fragmente sunt derivate prin intermediul digestiei, folosind enzimele proteolitice, a anticorpilor intacti (*vedea*, de exemplu, Morimoto și colaboratorii, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1993)); Brennan și colaboratorii, Science 229:81 (1985)). Conform cu anumite aspecte, fragmentele de anticorpi sunt generate recombinant. De exemplu, fragmentele de anticorpi pot să fie exprimate în și secretate din *E. coli* sau alte celule gazdă, permițând astfel generarea unor cantități mari de fragmente. Astfel de fragmente de anticorpi pot să fie, de asemenea, izolate din bibliotecile de fagi de anticorpi. Alte tehnici pentru generarea de fragmente de anticorpi vor fi evidente pentru specialistul în domeniu.

Conform cu anumite exemple de realizare, oricare dintre anticorpii sau fragmentele care leagă-antigenul acestora din exemplele de realizare pot să fie capabili să se lege la un antigen de ploșnițe de pat într-un lizat de ploșnițe de pat întregi sau într-un extract pe hârtie de colectare, care cuprinde material rezidual de ploșnițe de pat. Metodele de producere a lizatelor de ploșnițe de pat întregi și a extractelor de

hârtie de colectare, care cuprind deșeuri de ploșnițe de pat vor fi evidente pentru specialistul în domeniu, pe baza tehnicilor de extracție cunoscute și a metodelor dezvoltate în prezenta invenție. Ploșnițele de pat întregi care includ nimfe, masculi și/sau femele pot să fie obținute dintr-o zonă de infestare sau dintr-o colonie de ploșnițe de pat menținută experimental sau comercial și pot să includă orice specii *Cimex* sau tulpini, care includ, dar fără a se limita la, *Cimex lectularius* și tulpina Harlan. Hârtia de colectare care cuprinde deșeurile de ploșnițe de pat poate să includă, de exemplu, excremente de ploșnițe și/sau țesuturi și poate să fie obținută din surse comerciale (de exemplu, de la compania i2LResearch USA Inc., Baltimore, Maryland, SUA).

Aspectele pot să includă un mutant al anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Mutanții pot să conțină, de exemplu, mutații de substituție conservatoare, adică substituția unui aminoacid cu un aminoacid similar. De exemplu, substituția conservatoare se referă la înlocuirea unui aminoacid cu altul din aceeași clasă generală, cum ar fi, de exemplu, un aminoacid acid cu un alt aminoacid acid, un aminoacid bazic cu un alt aminoacid bazic sau un aminoacid neutru de un alt aminoacid neutru. Ceea ce se intenționează prin substituția conservatoare a aminoacizilor este bine cunoscut în stadiul tehnicii. Mutațiile pot să includă, de asemenea, ștergeri, inserții, inversiuni și repetări. Mutațiile pot să fie introduse folosind metode de biologie moleculară generală, care sunt cunoscute în stadiul tehnicii, care includ, dar fără a se limita la, tehnica PCR predispusă la erori, mutageneza direcționată pe oligonucleotide, mutageneza direcționată pe situs și amestecarea lanțului greu sau a lanțului ușor.

Aspectele pot să includă un anticorp monoclonal sau un fragment care leagă-antigenul acestuia având una sau mai multe caracteristici care sunt substanțial similare cu acelea ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Expresia "substanțial asemănător" așa cum este utilizată în prezenta dezvăluire denotă un grad suficient de mare de similitudine între două caracteristici, astfel încât un specialist în domeniu ar putea să considere diferența ca este mică sau fără nicio semnificație biologică și/sau statistică. Conform cu anumite exemple de realizare, diferența dintre două valori numerice poate să fie mai mică cu aproximativ 15%, 10%, 5%, 2% sau 1%. Caracteristicile anticorpilor depuși pot să includă una sau mai multe proprietăți, cum ar fi, dar fără a se limita la, specificitatea de legare (de exemplu, valoarea Kd), determinanți antigenici /epitopi și secvențe de polinucleotide sau polipeptide. Conform cu anumite aspecte, anticorpul monoclonal sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia are o secvență de polinucleotidă sau polipeptidă care este de cel puțin 90%-99%, cel puțin 95%-99%, cel puțin 90%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, %, cel puțin 97%, cel puțin 98% sau cel puțin 99% identic cu secvența polinucleotidică sau polipeptidică a anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite aspecte, anticorpul monoclonal sau fragmentul de legare-a antigenului acestuia posedă una sau mai multe dintre aceleași caracteristici ca și anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite aspecte, anticorpul monoclonal sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia se leagă la același determinant antigenic /epitop ca și anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7].

Termenul "epitop" sau "determinant antigenic" poate să fie utilizat în prezenta dezvăluire, în mod interschimbabil, pentru a se referi la acea parte a unui antigen capabilă să fie recunoscută și legată în mod specific de un anticorp special. Un epitop include în mod obișnuit cel puțin 3, și mai obișnuit, cel puțin 5 sau de la 8 până la 10 aminoacizi într-o conformație spațială unică. Un epitop poate să fie, de exemplu, aminoacizii contigui ai unei polipeptide (epitop liniar sau contiguu) sau un epitop poate, de exemplu, să vină împreună din două sau mai multe regiuni necontigue ale unei polipeptidă sau polipeptide (conformaționale, neliniare, epitop discontinuu sau necontiguu). Epitopul la care se leagă un anticorp poate să fie determinat, de exemplu, prin spectroscopie RMN, studii de cristalografie cu difracție de raze X, teste ELISA, schimb de hidrogen/deuteriu cuplat cu spectrometrie de masă (de exemplu, spectrometrie de masă cu electrospray prin cromatografie lichidă), teste de scanare a oligo-peptidelor pe bază de rețea și/sau cartografierea mutagenezei (de exemplu, cartografierea mutagenezei direcționate pe situs). În cazul cristalografiei cu raze X, cristalizarea poate să fie realizată folosind oricare dintre metodele cunoscute în stadiul tehnicii (de exemplu, Giegé R și colaboratorii, (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303). Cristalele de anticorpi:antigen pot să fie studiate folosind tehnici bine cunoscute de difracție cu raze X și pot să fie rafinate utilizând software de calculator cum ar fi software-ul X-PLOR (Yale University, 1992, distribuit

de compania Molecular Simulations, Inc.; *vedea*, de exemplu, Meth Enzymol (1985) volumele 114 și 115, eds Wyckoff HW și colaboratorii; cererea de brevet de invenție U.S. 2004/0014194), și BUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed. Carter CW; Roversi P și colaboratorii, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10): 1316-1323). Studiile de cartografiere a mutagenezei pot să fie realizate folosind orice metodă cunoscută unui specialist în domeniu. *Vezi, de exemplu*, Champe M și colaboratorii, (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394 și Cunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085 pentru descrierea tehnicilor de mutageneză, care includ tehnicile de mutageneză cu scanarea alaninei.

Aspectele pot să includă un anticorp monoclonal sau un fragment care leagă – antigenul acestuia conjugată care cuprinde oricare dintre anticorpii, fragmentele care leagă-antigenul acestora sau mutații care sunt descriși în prezenta dezvoltare și un agent de detectare, care includ agenții de detectare care s-au descris mai sus. Agentul de detectare poate să fie conjugat direct sau indirect cu anticorpul, cu fragmentul care leagă-antigenul acestuia sau mutantul. Agentul de detectare poate să fie detectabil de la sine sau, în cazul unui marker enzimatic, poate să catalizeze alterarea chimică a unui compus sau a unei compoziții substrat care este detectabilă. Agentul de detectare include, dar nu este limitat la, un radiomarker, un fluorofor, un cromofor, un agent de imagistică sau un metal, incluzând un ion metalic. Conform cu anumite exemple de realizare, agentul de detectare este aurul coloidal sau nanoparticulele de aur. Conform cu anumite exemple de realizare, aurul coloidal sau nanoparticulele de aur sunt compuse din particule de aur având o dimensiune de: 1-300 nm, 1-250 nm, 10-200 nm, 20-150 nm, 20-100 nm, 20-80 nm, 20-60 nm, 20-50 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm, 100 nm, 150 nm, 200 nm, 250 nm sau 300 nm. Conform cu anumite aspecte, anticorpul conjugat sau fragmentul care leagă-antigenul conjugat cuprinde anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2], sau un fragment care leagă-antigenul acestuia, sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub Numărul de acces PTA-122645 [BB7], sau un fragment care leagă-antigenul acestuia.

Conform cu unele aspecte este furnizată o compoziție care cuprinde oricare dintre anticorpii sau fragmente care leagă-antigenul acestora, mutații sau anticorpi sau fragmente care leagă-antigenul acestora conjugată în, sau o combinație între acestea. Conform cu anumite aspecte, compoziția cuprinde anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] și anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite aspecte, compoziția cuprinde anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] și un anticorp conjugat care cuprinde anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7] și un agent de detectare. Conform cu anumite aspecte, compoziția cuprinde anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7] și un anticorp conjugat care cuprinde anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] și un agent de detectare.

În prezenta dezvoltare este descris un kit care cuprinde oricare dintre anticorpii sau dintre fragmentele de legare-a antigenului acestora, mutații, anticorpii sau fragmente care leagă-antigenul acestora conjugată, sau compoziții în, sau o combinație între acestea. Conform cu anumite aspecte, un kit cuprinde cel puțin o componentă într-un recipient sau în mai multe recipiente. Conform cu unele aspecte, kit-ul cuprinde componentele necesare și/sau suficiente pentru efectuarea unui test de detectare, care include eșantioane de control, instrucțiuni pentru efectuarea testelor, orice dispozitiv necesar și/sau software pentru analiza și prezentarea rezultatelor. Dispozitivele adecvate includ pe acelea care sunt dezvoltate în brevetele de invenție U.S. No. 7.220.597 și U.S. No. 7.214.542.

În prezenta dezvoltare este descris un hibridom capabil să genereze un anticorp, în care hibridomul este depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau în care hibridomul este depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7].

În prezenta invenție este descrisă o polipeptidă izolată care cuprinde o secvență de aminoacizi având cel puțin 90%-99%, având cel puțin 95%-99%, având cel puțin 90%, având cel puțin 95%, având cel puțin 96%, având cel puțin 97%, având cel puțin 98% sau având cel puțin 99% identitate cu o secvență de aminoacizi a unei regiuni variabile a lanțului greu sau a lanțului ușor, sau a unui lanț greu sau a unui lanț ușor, a anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite aspecte, polipeptida cuprinde secvențele de aminoacizi ale CDR-urilor unei regiuni variabile a lanțului greu sau a lanțului ușor ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite aspecte, polipeptida cuprinde secvențele de aminoacizi ale regiunii variabile a lanțului greu sau a lanțului ușor, sau ale lanțului greu sau ale lanțului ușor, ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau ale

anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7].

5 în prezenta invenție este descrisă o polinucleotidă izolată care cuprinde o secvență de acid nucleic având cel puțin 90%-99%, având cel puțin 95%-99%, având cel puțin 90%, având cel puțin 95%, având cel puțin 96%, având cel puțin 97%, având cel puțin 98% sau având cel puțin 99% identitate cu o secvență de acid nucleic care codifică pentru o regiune variabilă a lanțului greu sau a lanțului ușor, sau pentru un lanț greu sau pentru un lanț ușor, a anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau a anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite aspecte, polinucleotida cuprinde secvențe de acid nucleic care codifică CDR-urile unei regiuni variabilă a lanțului greu sau a lanțului ușor a anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau a anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7]. Conform cu anumite aspecte, polinucleotida cuprinde o secvență de acid nucleic care codifică pentru regiunea variabilă a lanțului greu sau a lanțului ușor, sau pentru lanțul greu sau lanțul ușor, ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau ale anticorpului generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7].

10 În prezenta invenție este descris un vector care cuprinde una sau mai multe dintre polinucleotidele izolate. Conform cu anumite aspecte, vectorul este un vector de exprimare.

20 În prezenta invenție este descrisă o celulă izolată care produce un anticorp, un fragment care leagă-antigenul sau un mutant. Conform cu anumite aspecte, celula este un hibridom. Conform cu anumite exemple de realizare, celula cuprinde unul sau mai mulți vectori ai invenției. Conform cu anumite exemple de realizare, celula cuprinde una sau mai multe polinucleotide ale invenției.

25 În prezenta invenție este descrisă o metodă de generare a unui anticorp, a unui fragment care leagă-antigenul sau al unui mutant, care cuprinde cultivarea unei celule izolate care generează anticorpul, fragmentul care leagă-antigenul sau mutantul și izolarea anticorpului, a fragmentului care leagă-antigenul sau a mutantului din celula cultivată.

30 Celulele includ, dar nu sunt limitate la, hibridoame, procariote, drojdie, insecte sau celule eucariote superioare. Hibridoamele care generează anticorpi monoclonali pot să fie propagate fie *in vitro* cultura folosind metode standard (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986) sau fie *in vivo* ca tumori ascitice la un animal. Procariotele includ organisme gram negative sau gram pozitive, de exemplu *E. coli* sau bacili. Celulele eucariote superioare includ, dar nu sunt limitate la, linii celulare stabilite de origine mamiferă. Exemple de linii celulare de origine mamiferă adecvate includ linii celulare COS-7, L, C127, 3T3, ovar de hamster chinezesc (CHO), HeLa și BHK. Conform cu anumite aspecte, oricare dintre anticorpii, fragmentele de legare-a antigenului sau mutații din prezenta invenție sunt generați de celule izolate după transfecția celulelor cu vectori care cuprind polinucleotide, care codifică pentru secvențele anticorpilor, ale fragmentelor care leagă-antigenul sau ale mutațiilor definiți conform prezentei invenții. Vectorii de clonare și de exprimare adecvați pentru utilizare cu gazde celulare bacteriene, fungice, de drojdie și de mamifere sunt descriși de Pouwels și colaboratorii. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N.Y., 1985). Vectorii de exprimare de origine mamiferă pot să cuprindă elemente netranscrise, cum ar fi o origine de replicare, un promotor și un amplificator adecvat legat de gena care urmează să fie exprimată și alte secvențe netranscrise 5' sau 3' de flancare și secvențe netranscrise 5' sau 3', cum sunt necesare situs-urile necesare de legare-a ribozomilor, un situs de poliadenilare, situsuri donoare și acceptoare de îmbinare și secvențe de terminare a transcripției. Sistemele de baculovirus pentru producerea de proteine heterologe în celulele de insecte sunt revizuite de către Luckow și Summers, Bio/Technology 6:47 (1988).

45 Anticorpii, fragmentele de legare-a antigenului sau mutații descriși în prezenta dezvăluire pot să fie izolați din celule sau din mediul de cultură sau din fluidul de ascită pentru propagarea de hibridoame *in vivo*. Izolarea anticorpilor, a fragmentelor de legare-a antigenului sau a mutațiilor poate să fie efectuată conform oricărei metode adecvate. Astfel de metode standard includ cromatografia (de exemplu, schimbul de ioni, cromatografia pe coloană de afinitate și de excludere a mărimii), centrifugarea, solubilitatea diferențială sau prin orice altă tehnică standard destinată pentru purificarea proteinelor. Metodele cunoscute în stadiul tehnicii pentru purificarea anticorpilor și a altor proteine includ, de exemplu, pe acelea care sunt descrise în cererile de brevete de invenție U.S. Nr. 50 2008/0312425, U.S. Nr. 2008/0177048, și U.S. Nr. 2009/0187005.

60 Conform cu prezenta invenție este descrisă o metodă de detectare a ploșnițelor de pat, care cuprinde aducerea în contact a unui eșantion, care cuprinde un antigen al ploșniței de pat, cu oricare dintre anticorpi, fragmente care leagă-antigenul, mutații, anticorpi conjugați sau fragmente care leagă-antigenul conjugate sau compoziții sau o combinație între acestea și detectarea legării antigenului de ploșniță de pat de anticorp sau de fragmentul care leagă-antigenul, de mutant, de anticorpul conjugat sau de fragmentul care leagă-antigenul acestuia conjugat, de compoziția sau de combinația acestora. Termenul "un

eșantion" include, dar nu se limitează la, ploșnițe de pat întregi, părți de ploșnițe de pat, reziduuri de ploșnițe de pat, lizate sau extracte ale acestora, extracte pe hârtia de colectare care cuprind reziduuri de ploșnițe de pat și fluide care conțin acestea.

Aducerea în contact poate să fie realizată folosind orice metodă adecvată. Conform cu anumite aspecte, aducerea în contact se face prin aplicarea unui eșantion, care cuprinde antigenul ploșniței de pat la un anticorp, fragmentul care leagă-antigenul, mutantul, anticorpul conjugat sau fragmentul care leagă-antigenul conjugat, sau o compoziție sau o combinație între acestea care este imobilizată sau localizată în alt mod pe o suprafață. Orice suprafață acceptabilă poate să fie utilizată, după cum va fi apreciat de către specialistul în domeniu, care include, dar fără a se limita la, o membrană nitrocelulozică sau un tampon compus dintr-un material adecvat, și poate să includă un design tip sandwich, godeu sau cu debit lateral. Conform cu anumite aspecte, eșantionul este adus în contact cu un anticorp și cu un anticorp conjugat. Conform cu anumite aspecte, anticorpul este generat de hibridomul care a fost depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2], iar anticorpul conjugat cuprinde anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7] și un agent de detectare. Conform cu anumite aspecte, anticorpul este generat de hibridomul care a fost depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122645 [BB7], iar anticorpul conjugat cuprinde anticorpul generat de către hibridomul depus la autoritatea ATCC sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] și un agent de detectare. Conform cu anumite aspecte, aducerea în contact mai cuprinde aducerea în contact a anticorpului, a fragmentului de legare-a antigenului, a mutantului, a anticorpului conjugat sau a fragmentului de legare-a antigenului conjugat, sau a compoziției definite conform invenției, sau a unei combinații a acestora cu o eșantion martor în scop de comparare cu eșantionul de testat.

Detectarea poate să fie realizată folosind orice metodă adecvată și poate să includă detectarea cantitativă sau calitativă. Astfel de metode includ, dar nu se limitează la, teste de legare-a antigenului care sunt bine cunoscute în stadiul tehnicii, cum ar fi testele de debit lateral, radioimunotestele, testele ELISA (testul imunisorbent legat de enzimă), imunotestele "sandwich", testele de imunoprecipitare, imunotestele fluorescente, imunotestele proteinei A și imunohistochimice (IHC). Detectarea poate să includă, de exemplu, analiza vizuală a unei reacții colorimetrice, fluorescente sau luminiscente, sau poate să includă utilizarea unui dispozitiv care măsoară astfel de reacții. Dispozitivele adecvate se referă la acelea dezvoltate în brevetele de invenție U.S. No. 7.220.597 și U.S. No.7.214.542, precum și dispozitivul dezvoltat în prezenta invenție. Conform cu anumite exemple de realizare, detectarea cuprinde efectuarea unui test de debit lateral. Conform cu anumite aspecte, detectarea are loc în 1-20 de minute, în 1-15 minute, în 1-10 minute, în 1-5 minute, în 20 de minute sau mai puțin, în 15 minute sau mai puțin, în 10 minute sau mai puțin, în 5 minute sau mai puțin, în 20 de minute, în 15 minute, în 10 minute sau în 5 minute.

Cantitatea de anticorp, de fragment care leagă-antigenul, de mutant, de anticorp conjugat sau de fragment care leagă-antigenul, de compoziție definite conform prezentei invenții sau de combinație între acestea poate să includă orice cantitate eficientă, care va fi evidentă pentru un specialist în domeniu, pe baza metodelor de detectare cunoscute precum și a metodele care sunt dezvoltate în exemple. Eșantionul poate să fie diluat sau nediluat.

Conform cu anumite aspecte, metoda cuprinde, în plus, colectarea unui eșantion care cuprinde antigenul de ploșniță de pat folosind un dispozitiv de colectare și extragerea antigenelor din eșantion. Eșantionul poate să fie colectat de pe orice suprafață asociată cu infestarea ploșnițelor de pat, care include, dar fără a se limita la, lenjerie de pat, saltele, tapițerie, covoare, carpete și mobilier. Dispozitivul de colectare poate să fie orice dispozitiv adecvat, care include, dar fără a se limita la un tampon, cum ar fi un tampon de bumbac, un aspirator sau orice material care poate să fie utilizat pentru colectarea reziduurilor, care includ, dar fără a se limita la, un șervețel, batistă de hârtie sau prosop. Conform cu anumite aspecte dispozitivul de colectare este un tampon. Conform cu anumite aspecte, extragerea antigenelor din eșantion cuprinde solubilizarea antigenelor în eșantion folosind un tampon de extracție. Tamponurile de extracție adecvate vor fi evidente pentru specialistul în domeniu, având în vedere tamponurile de extracție bine-cunoscute precum și acelea care sunt dezvoltate în exemple.

Proprietățile anticorpilor BB2 și BB7 sunt dezvoltate în exemplele care urmează, care sunt furnizate cu titlu de ilustrare și nu ca limitare.

#### **Exemplul 1: Generarea de anticorpi monoclonali anti-ploșniță de pat**

Șoarecii au fost imunizați folosind lizate de ploșnițe de pat întregi și extracte pe hârtie de ploșnițe (*adică* extracte pe hârtie de colectare a ploșnițelor de pat care conține deșeuri dintr-o colonie de ploșnițe de pat).

Lizate de ploșnițe de pat întregi au fost realizate folosind nimfe, masculi și femele dintr-o colonie de ploșnițe de pat (tulpina Harlan, i2LResearch USA Inc., Baltimore, Maryland, SUA) care au fost congelate și triturate în soluție salină tamponată cu fosfat IX (PBS). Lizatele au fost limpezite folosind un filtru de seringă de 0,45 micrometri. Concentrația de proteine s-a determinat printr-un test

standard al proteinei Bradford. Extractele limpezite, cuantificate au fost împărțite în alicote în tuburi Eppendorf de 1,5 ml și depozitate la temperatura de -80 °C.

Hârtia de colectare a ploșnițelor de pat (i2LResearch USA Inc., Baltimore, Maryland, SUA) s-a tăiat în bucăți de aproximativ 1 cm<sup>2</sup> și s-a plasat în tuburi de centrifugă din material plastic de 2 ml. Extracția s-a efectuat prin adăugarea de 1,0 mL de 50 mM PBS (pH = 7,4) și amestecarea tuburilor timp de 30 de minute folosind un balansoar. După 30 de minute, extractul s-a extras complet prin trecerea amestecului printr-o seringă de 5 ml. Apoi, acest extract colectat s-a utilizat pentru a obține mai mult extract din hârtia de colectare proaspătă prin adăugarea în serie a extractului pe hârtia nou tăiată și repetarea procedurii. Apoi, extractul final a fost centrifugat la turație de 12.000 rotații per minut (rpm) timp de 10 minute pentru a îndepărta particulele. Supernatantul s-a îndepărtat și s-a reținut, iar materialul granulat s-a aruncat. Concentrația de proteină a supernatantului a fost determinată conform cu testul Bradford ca fiind de 0,6 mg/mL. Soluția finală (*adică* "extractul pe hârtie de ploșniță de pat") a fost păstrat la temperatura de -20 °C.

Patru șoareci Balb/c în vârstă de 4-5 săptămâni (Harlan Laboratories, Inc., Indianapolis, Indiana, SUA) au fost imunizați subcutanat în partea din spate cu 50 μg lizat de ploșnițe de pat întregi amestecat cu 100 μl de adjuvant. Adjuvantul utilizat pentru doi dintre șoareci a fost un adjuvant tradițional (Adjuvant Freund, Sigma-Aldrich Co. LLC, St. Louis, Missouri, SUA), iar adjuvantul utilizat pentru ceilalți doi șoareci rămași a fost un adjuvant solubil în apă (ImmuQuik®, KCH Scientific, San Jose, California, SUA).

În ziua a 14-a după imunizarea inițială, șoarecii imunizați au fost stimulați cu 50 μg de lizat de ploșnițe de pat întregi amestecat cu 100 μl dintr-un adjuvant așa cum a fost utilizat inițial pentru fiecare șoarece. În ziua a 37-a, serurile de la șoareci au fost testate - prin titru folosind un imunotest enzimatic standard, folosind anticorpi conjugați cu peroxidază de hrean anti-șoarece de capră drept anticorp secundar/enzimă conjugat și 3,3',5,5'-tetrametilbenzidină ca substrat cromogen și 10 μg/ml lizat de ploșnițe de pat întregi ca sursă de antigen. Cei doi șoareci imunizați cu lizat de ploșnițe de pat întregi în adjuvantul solubil în apă au produs titruri mai mari. Cu toate acestea, deoarece titrurile nu au fost, în general, puternice toți cei patru șoareci imunizați au fost stimulați cu dublul cantității de lizat de ploșnițe de pat întregi (*adică* 100 μg) în Ziua a 51-a și apoi, din nou, în Ziua a 78-a. În Ziua a 107-a, cei patru șoareci au fost stimulați cu 15 μl de extract de hârtie de ploșniță de pat. În ziua a 117-a, șoarecele cu cel mai mare titru anterior a fost testat prin titru folosind lizat de ploșnițe de pat întregi sau extract pe hârtie de ploșniță ca sursă de antigen. S-a observat o reacție slabă pentru extractul pe hârtie de ploșniță de pat. În ziua a 134-a, toți cei patru șoareci au fost stimulați cu 100 μl de extract pe hârtie de ploșniță de pat folosind ImmuQuik® ca adjuvant. În ziua a 151-a, șoarecii au fost testați prin titru folosind extract pe hârtie de ploșniță ca sursă de antigen, iar șoarecele cu cel mai mare titru a fost stimulat cu 100 μl extract pe hârtie de ploșniță de pat.

Celulele splinei au fost colectate de la cei doi șoareci cu cel mai mare titru, unul în Ziua a 154-a și celălalt în Ziua a 216-a și au fost condensate cu celule de mielom murinic SP 2/0 utilizând polietilen glicol. Celulele condensate au fost cultivate în mediu de selecție timp de 10 zile, urmate de screening cu extract pe hârtie de ploșniță de pat ca sursă de antigen. Aproximativ 41 de clone pozitive au fost identificate din screeningul primar și aproximativ 25 de clone pozitive au fost confirmate în screeningul secundar. Au fost subclonate linii celulare stabile, au fost produse ascitele pentru mai mult de 25 de clone și anticorpii au fost purificați (de exemplu, în cantități de 2-5 mg). Doi anticorpi denumiți în prezenta dezvoltării anticorp BB2 și anticorp BB7 au fost determinați prin imunotest enzimatic pentru a realiza o reacție puternică cu extractul pe hârtie de ploșniță de pat în comparație cu anticorpii din alte clone și au fost selectați pentru studii suplimentare. Hibridoamele generatoare de anticorp BB2 și de anticorp BB7 au fost depuse în conformitate cu Tratatul de la Budapesta la American Type Culture Collection, Patent Depository, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, la 8 octombrie 2015, și au primit numărul de acces ATCC PTA-122644 și respectiv Nr. Acces ATCC PTA-122645.

## 50 **Exemplul 2: Testul de captare tip sandwich a anticorpilor monoclonali anti-ploșnițe de pat**

Un test de captare tip sandwich a fost efectuat folosind anticorpul BB2 sau anticorpul BB7 ca anticorp de captare și fie anticorpul BB2 conjugat cu aur, fie anticorpul BB7 conjugat cu aur ca anticorp detector. Extractul pe hârtie de ploșniță de pat așa cum este descris în Exemplul 1 a fost utilizat ca sursă de antigen de ploșniță de pat. Un anticorp policlonal anti-ploșniță de pat de iepure, așa cum este descris în cererea de brevet de invenție U.S. No. 2015-0064727 a fost utilizat drept anticorp de captare de control pozitiv și PBS-ul a fost utilizat drept control negativ pentru antigen.

Anticorpii de captare au fost spotați la concentrații de 2,0 mg/ml sub formă de puncte de 0,3 μl pe benzi de hârtie nitrocelulozică. Extractul pe hârtie de ploșnițe de pat a fost adăugat pe benzile de testare și PBS a fost adăugat pe benzile de control negativ. Anticorpul BB2 conjugat cu aur (la pH = 7 sau la pH = 9) sau anticorpul BB7 conjugat cu aur (la pH = 9) s-au adăugat drept anticorp detector pe benzi așa cum este ilustrat în FIG.15. Benzile de control negativ au afișat absența legării de către anticorpii

5 detectori. Benzile de testare au afișat colorarea roșie a punctelor de captare, fapt care a indicat legarea anticorpilor detector conjugați cu aur la antigenul de ploșniță de pat imobilizat pe nitroceluloză de către anticorpii de captare. După cum este rezumat în Tabelul 1, au fost observate reacții puternice prin utilizarea fie a anticorpului BB2, fie a anticorpului BB7 ca anticorp de captare. În schimb, reacții foarte slabe (*adică* "+") sau incerte (*adică* Reacțiile "+/-") au fost observate prin utilizarea anticorpului policlonal anti-ploșniță de pat de iepure ca anticorp de captare.

**Tabelul 1:** Intensități observate în testul de captare tip sandwich

Anticorp detector conjugat cu aur (pH)	Anticorp captare		
	Anticorp policlonal anti- ploșnițe de pat de iepure	BB2	BB7
BB2 (7)	+	++++	+++
BB2 (9)	+	+++	++
BB7 (9)	+/-	++++	+++

10 **Exemplul 3: Imunotest de debit lateral pentru a detecta antigenele ploșnițelor de pat**

Un exemplu de imunotest de debit lateral s-a conceput pentru a detecta antigenele ploșnițelor de pat din eșantioanele care s-au prelevat prin tamponarea zonelor, având diferite niveluri de infestare cu ploșnițe de pat. Tamponanele de extracție au fost preparate și testate din punct de vedere al extracției eficiente a antigenului de ploșniță de pat din tamponane, al debitului corespunzător pe benzile de testare nitrocelulozice și al legării nespecifică scăzută până la deloc. Eșantioanele de tampon au fost extrase și diluate în serie pentru investigarea sensibilității testului. Precizia testului a fost investigată prin testarea replicilor și citirea intensităților semnalului folosind un cititor de benzi de testare.

15 Prepararea membranei de nitroceluloză: Membrane de nitroceluloză (CN 140, 25 mm, Sartorius Corp., Bohemia, New York, SUA) au fost pulverizate cu 1,0 mg/mL de anticorp BB7 anti-ploșniță de pat ca linie de testare și 0,5 mg/mL de anticorp anti-șoarece de capră (achiziționat de la compania Lampire Biological Laboratories, Pipersville, Pennsylvania, SUA) ca linie de control folosind un jet de aer Biodot (Biodot, Irvine, California, SUA) pentru striparea membranelor nitrocelulozice. Tamponul de stripare a fost IX PBS, 0,2 % zaharoză, pH = 7,4. Linia de testare și linia de control au fost pulverizate la o distanță de 7 mm, cu linia de testare situată la 10 mm de partea inferioară a membranei. Membranele au fost stripate la o rată de 1,0 μl/cm. Membranele au fost uscate la temperatura de 37°C, timp de 1 oră și depozitate într-o pungă din folie uscată. Membranele stripate au fost menținute în desicator peste noapte înainte de blocare.

20 Blocarea membranei de nitroceluloză: După uscare peste noapte, membranele stripate au fost plasate într-o soluție de blocare (25 mM KPO<sub>4</sub>, 0,2% cazeină, 0,5% acid boric, 0,02% zaharoză, 0,1% agent activ de suprafață 10G, 0,5% PVA) cu orientarea liniei de testare către partea de jos a nitrocelulozei și a liniei de control pe partea superioară a nitrocelulozei. Soluția de blocare a fost lăsată să fie absorbită în partea de sus a membranei. Membranele au fost îndepărtate din soluția de blocare și plasate într-un stativ-rack pentru a se usca la temperatura de 37°C timp de 1 oră. Membranele blocate au fost păstrate uscate într-o pungă de material plastic și s-au depozitat într-o cameră uscată.

25 Conjugarea anticorp cu aur: O casetă de dializă Slide-A-Lyzer™ (limită de greutate moleculară de 10000, achiziționată de la compania Thermo Fisher Scientific Inc., Carlsbad, California, SUA) a fost utilizată pentru a dializa anticorpul BB2 anti-ploșniță de pat peste noapte în 10 mM KPO<sub>4</sub>, pH = 7,4. Concentrația finală a anticorpului BB2 după dializare a fost de 0,875 mg/ml. O soluție de aur coloidal care conține particule având mărimea de 40 nm și densitatea optică (OD) de 2,28 la 525 nm a fost ajustată la temperatura camerei la pH = 8,6 cu 0,1 M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> proaspăt preparat. Anticorpul BB2 dializat s-a adăugat peste soluția de aur coloidal în timp ce s-a agitat folosind un vortex. Soluția s-a incubat timp de 30 de minute, pe un rotator la temperatura camerei. Conjugatul s-a blocat cu 10 μl (pentru fiecare 1 ml de OD 2 aur coloidal) de tampon de blocare conjugat cu particule de aur (25 mM KP04, 0,2% Bioterge, 6% BSA, 0,3% zaharoză) pe un rotator, la temperatura camerei, timp de 10 minute. Conjugatul de aur s-a centrifugat la turație de 12000 rpm, la temperatura de 4°C, timp de 20 de minute și supernatantul s-a aruncat. Peleta de conjugat s-a resuspendat cu 0,2 ml (pentru fiecare 1 ml OD 2 de aur coloidal) tampon de resuspensie (diluție 1:5 tampon de blocare a conjugatului de aur în 25 mM KPO<sub>4</sub>, 0,05% azidă de sodiu). OD-ul anticorpului BB2 conjugat cu aur s-a verificat folosind un spectrofotometru și s-a ajustat la 10. Anticorpul BB2 conjugat cu aur a fost depozitat la temperatura de 4°C.

30 Prepararea tamponului conjugat cu aur: S-a folosit o pipetă P-1000 pentru a satura tamponane conjugate din fibră de sticlă Ahlstrom 8950 de 300 mm (Ahlstrom, Helsinki, Finlanda) cu tampon de blocare (25 mM KPO<sub>4</sub>, 0,2% cazeină, 0,5% acid boric, 0,02% zaharoză, 0,1% agent activ de suprafață

10G, 0,5% PVA). După 15 minute, tamponurile conjugate saturate s-au transferat pe un prosop de hârtie timp de un minut. Apoi, tamponurile conjugate s-au plasat pe un stativ rack pentru a se usca la temperatura de 37°C, timp de 1 oră. Tamponurile conjugate blocate s-au introdus într-o pungă de material plastic cu agenți de uscare și s-au depozitat într-o cameră uscată. Anticorpul BB2 conjugat - cu aur OD10 s-a preparat prin adăugarea de 10% zaharoză și 5% trehaloză în conjugat. Anticorpul conjugat - cu aur a fost distribuit pe tamponurile de conjugat folosind un striper automat (Matrix 160, Kinematic Automation, Inc., Twain Harte, California, SUA) la o rată de distribuire de 10 μl/cm. Tamponurile conjugate s-au uscat la temperatura de 37°C, timp de 1 oră, ambalate într-o pungă de folie uscată și depozitate într-o cameră uscată.

10 Laminarea și tăierea benzilor de testare: Membrana de nitroceluloză stripată cu anticorpul BB7 de testare și anticorpul anti-șoarece de capră de control s-a laminat pe un card suport de vinil (achiziționat de la compania G&L Precision Die Cutting, San Jose, California, SUA). Un tampon fitil (30250, EMI Specialty Papers, Redding, Connecticut, SUA) s-a plasat pe partea superioară a suportului, suprapunând membrana cu 2 mm. Un tampon de conjugat de 10 mm s-a suprapus peste membrană cu 2 mm. Un tampon de eșantion (surewick C048 tampon de celuloză, Millipore, Darmstadt, Germania) s-a plasat deasupra tamponului de conjugat cu o suprapunere de 15 mm din partea de jos a cardului de suport. Cardurile asamblate s-au tăiat în fâșii de câte 4 mm folosind un cuțit (achiziționat de la compania CM4000, Biodot, Irvine, California, SUA).

20 Extragerea tamponurilor de testare: Eșantioanele de tampon s-au obținute din situs-urile de testare având diferite niveluri de infestare cu ploșnițe de pat, desemnate ca niveluri 0, 2, 3, 4, 5, 7 și 8, în care 0 reprezintă cel mai scăzut nivel (*adică*, fără ploșnițe de pat) și 8 reprezintă cel mai înalt nivel. Tamponurile au fost extrase în 350 μl de tampon de extracție, timp de 15 minute, la temperatura camerei într-un tub Eppendorf. Au fost testate trei soluții tampon de extracție: tamponul de extracție 1 conține 1X Tris-HCl (pH = 7,6), 0,05 % NaN<sub>3</sub>, 0,1 % BSA și 0,1 % Tween-20; tamponul de extracție 2 conține 1X Tris-HCl (pH = 7,6), 0,05 % NaN<sub>3</sub>, 0,1 % BSA și 0,2 % Tween-20; și tamponul de extracție 3 conține 1X Tris-HCl (pH 7,6), 0,05 % NaN<sub>3</sub>, 0,25 % BSA și 0,1 % Tween-20. S-au efectuat diluții în serie ale extractelor de tampon de la 1/2 la 1/4096.

30 Metoda de testare a dozei: o cantitate de 70 μl de tampon de extracție (control negativ) sau eșantion de tampon de ploșniță de pat s-a pipetat pe tamponul de eșantion. Intensitatea liniei de testare a fost citită la interval de 15 minute vizual.

35 Rezultate tampon de extracție 1: După cum se arată în FIGURILE de la 16 până la 21, toate benzile au afișat linii de control pozitive pentru legarea anticorpului anti-șoarece de capră de anticorpul BB2 conjugat - cu aur. Toate benzile au afișat absența liniilor de testare pentru banda de control negativ în care s-a adăugat tampon de extracție în loc de o eșantion de tampon. FIG.16 afișează numai liniile de control pozitive pentru diluțiile eșantionului de tampon de nivel 0, deoarece antigenul de ploșniță de pat nu a fost prezent. În FIGURILE de la 17 până la 21, liniile de control pozitiv sunt liniile superioare și orice linii de testare, care afișează prezența antigenului de ploșniță de pat sunt sub liniile de control pozitiv. Murdăria sau particule insolubile din tamponuri au fost prezente în apropierea fundului membranelor în cazul benzilor de testare de nivel 3, 5, 7 și 8. Eșantionul de tampon de nivel 2 (FIG. 17) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/16 la diluția 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 3 (FIG. 18) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/128 la diluția 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 4 (FIG. 19) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/1024 la diluția 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 7 (FIG. 20) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/4096 la diluția 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 8 (FIG.21) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/2048 la diluția 1/2. Deși observate vizual, unele dintre liniile de testare notate nu au fost ușor evidente pentru anumite diluții, fapt care este ilustrat în FIGURILE de la 17 până la 21 din cauza limitărilor fotografice. Toate liniile de testare au fost fără frotiuri. Intensitatea semnalului la diluție 1/2 din tamponul de nivel 2 a fost aproximativ egală cu aceea a diluției 1/32 din tamponul de nivel 3, diluția 1/64 din tamponul de nivel 4, diluția 1/1024 din tampon de nivel 7 și diluția 1/512 din tamponul de nivel 8. Prin urmare, intensitatea semnalului vizibil la diluție 1/2 din tamponul de nivel 2 a fost cea mai slabă, în comparație cu acelea la diluție 1/2 ale tamponurilor de nivelul 3, 4, 7 și 8. Semnalul la diluție 1/2 a tamponului de nivel 8 a fost cel mai puternic.

50 Intensitățile semnalului au fost, de asemenea, determinate folosind un cititor de benzi de testare Axxin (Axxin, Fairfield, Victoria, Australia) pentru a măsura ariile liniei de testare pentru diferite concentrații (de la 1/2048 până la 1/2) ale eșantioanele de tampon de nivel 0, 2, 3, 4, 7, și 8 extrase în 350 μl de tampon 1. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 2.

**Tabelul 2:** Ariile liniei de testare la diferite concentrații ale eșantioanelor de tampon (Tampon 1)

Concentrație	Aria liniei de testare					
	Nivelul 8	Nivelul 7	Nivelul 4	Nivelul 3	Nivelul 2	Nivelul 0
0	253	397	232	267	237	362
1/2048	654	1187	---	---	---	---
1/1024	1013	1978	359	---	---	---
1/512	1936	3291	443	336	297	---
1/256	3388	5356	681	526	284	---
1/128	5373	7348	990	526	285	---
1/64	7662	10522	840	743	326	327
1/32	9341	11385	3024	1199	310	296
1/16	11420	12550	4609	2095	411	265
1/8	12066	8830	7500	3309	392	433
1/4	9793	7765	7980	6161	574	316
1/2	8693	6279	8550	8516	967	448

Pentru fiecare nivel, a fost obținută o citire pentru un tampon drept control negativ (*adică*, concentrația "0"). Citirea de control negativ (Bo) a fost împărțită prin ea însuși pentru a obține o valoare normalizată de 1. Citirea de control negativ (Bo) a fost, apoi, împărțită la aria liniei de testare (B) pentru fiecare diluție în nivel, în care valorile mai mici de 1 au sugerat cantități mai mari de antigen de ploșniță de pat și valorile mai mari de 1 au indicat absența antigenului de ploșniță de pat. Datele exprimate ca Bo/B sunt furnizate în Tabelul 3.

10 **Tabelul 3:** Bo/B calculat din ariile liniei de testare la diferite concentrații de eșantioane de tampon (Tampon 1)

Concentrație	Bo/B					
	Nivelul 8	Nivelul 7	Nivelul 4	Nivelul 3	Nivelul 2	Nivelul 0
0	1	1	1	1	1	1
[1/2048]	0,3869	0,3345	---	---	---	---
[1/1024]	0,2498	0,2007	0,6462	---	---	---
[1/512]	0,1307	0,1206	0,5237	0,7946	0,798	---
[1/256]	0,0747	0,0741	0,3407	0,5076	0,8345	---
[1/128]	0,0471	0,054	0,2343	0,5076	0,8316	---
[1/64]	0,033	0,0377	0,2762	0,3594	0,727	1,107
[1/32]	0,0271	0,0349	0,0767	0,2227	0,7645	1,223
[1/16]	0,0222	0,0316	0,0503	0,1274	0,5766	1,366
[1/8]	0,021	0,045	0,0309	0,0807	0,6046	0,836
[1/4]	0,0258	0,0511	0,0291	0,0433	0,4129	1,146
[1/2]	0,0291	0,0632	0,0271	0,0314	0,2451	0,808

Tabelele 2-3 și FIG.22A evidențiază, în general, faptul că valorile măsurate ale concentrațiilor din tamponanele de nivelul 8 (care corespund celui mai mare nivel de infestare cu ploșnițe de pat) au fost cele mai mari, iar valorile concentrațiilor de la tamponanele de nivelul 2 (care corespund celui mai mic nivel de infestare cu ploșnițe de pat) au fost cele mai scăzute. Tabelul 2 și FIG.22B arată că tamponanele de nivelul 8 au produs intensități de semnal mai bune decât tamponanele de nivelul 2 și 4. Tabelul 3 sugerează că tamponanele de nivelul 8 au conținut mai mult antigen de ploșniță de pat decât alte niveluri.

Rezultate tampon de extracție 2: După cum se arată în fig. 23-25, toate benzile au arătat linii de control pozitive pentru legarea anticorpului anti-șoarece de capră la anticorpul BB2 conjugat cu aur.

Toate benzile au arătat absența liniilor de testare pentru banda de control negativ în care sa adăugat tampon de extracție în loc de o eșantion de tampon. În fig. 23-25, liniile de control pozitiv sunt liniile superioare și orice linii de test care arată prezența antigenului de ploșniță sunt sub liniile de control pozitiv. Mizerie sau particule insolubile din tampon au fost prezente în apropierea fundului membranelor pentru benzile de testare de nivel 4, 5 și 8. Eșantionul de tampon de nivel 4 (FIG. 23) a avut linii de testare vizibile de la diluția 1/512 la diluția 1/2. Eșantioanele de tampon de nivel 5 și 8 (figurile 24 și, respectiv, 25) au avut linii de testare vizibile de la diluția 1/1024 la diluția 1/2. Deși observate vizual, unele dintre liniile de testare notate nu sunt ușor evidente pentru anumite diluții care este ilustrat în FIG. 23-25 din cauza limitărilor fotografice. Toate liniile de testare au fost mănjite. Intensitatea semnalului diluției 1/16 din tamponul de nivel 4 a fost aproximativ egală cu cea a diluției de 1/64 din tamponul de nivel 5 și 8. Intensitatea semnalului a fost cea mai slabă pentru tamponul de nivel 4 și similară între tamponurile de nivel 5 și 8.

Intensitățile semnalului au fost, de asemenea, determinate folosind un cititor de benzi de testare Axxin (Axxin, Fairfield, Victoria, Australia) pentru a măsura ariile liniei de testare pentru diferite concentrații (de la 1/2048 până la 1/2) ale eșantioanelor de tampon de nivel 4, 5 și 8 extrase în 350  $\mu$ l de tampon 2. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 4.

**Tabelul 4:** Ariile liniei de testare din diferite concentrații de eșantioanele de tampon (Tampon 2)

Concentrație	Aria liniei de testare		
	Nivelul 8	Nivelul 5	Nivelul 4
0	195	230	217
1/2048	365	---	---
1/1024	693	542	356
1/512	961	810	446
1/256	1787	1395	527
1/128	3250	2143	959
1/64	5225	4157	1623
1/32	7927	6696	2692
1/16	9306	9766	4413
1/8	10647	10173	6685
1/4	11489	---	8605
1/2	9818	12250	10150

20 Datele exprimate ca Bo/B calculate din ariile liniei de testare sunt furnizate în Tabelul 5.

**Tabelul 5:** Bo/B calculat din ariile liniei de testare pentru diferite concentrații de eșantioane de tampon (Tampon 2)

Concentrație	Bo/B		
	Nivelul 8	Nivelul 5	Nivelul 4
0	1	1	1
[1/2048]	0,5342	---	---
[1/1024]	0,2814	0,4244	0,6096
[1/512]	0,2029	0,2840	0,4865
[1/256]	0,1091	0,1649	0,4118
[1/128]	0,06	0,1073	0,2263
[1/64]	0,0373	0,0553	0,1337
[1/32]	0,0246	0,0343	0,0806

Concentrație	Bo/B		
	Nivelul 8	Nivelul 5	Nivelul 4
[1/16]	0,0210	0,0236	0,0492
[1/8]	0,0183	0,0226	0,0325
[1/4]	0,0170	---	0,0252
[1/2]	0,0199	0,0188	0,0214

Tabelele 4-5 și FIG. 26A, în general, arată că valorile măsurate pentru tamponelor de nivelul 8 au fost cele mai mari, iar valorile tamponelor de nivelul 4 au fost cele mai mici. Deși, vizibilitatea liniilor de testare corespunzătoare tamponelor de nivelul 5 a fost similară cu aceea a tamponelor de nivel 8 (FIG. 24 și, respectiv, FIG. 25), rezultatele cititorului Axxin indicate în Tabelul 4 și FIG. 26A arată că tamponele de nivel 8 au produs intensități de semnal mai bune decât tamponele de nivel 4 și nivel 5. Tabelul 5 sugerează faptul că tamponele de nivelul 8 au conținut mai mult antigen de ploșnițe de pat decât celelalte niveluri.

**Rezultate tampon de extracție 3:** După cum se arată în FIGURILE de la 27 până la 31, toate benzile au arătat linii de control pozitive în ceea ce privește legarea anticorpului anti-șoarece de capră la anticorpul BB2 conjugat - cu aur. Toate benzile au arătat absența liniilor de testare pentru banda de control negativ în care s-a adăugat tampon de extracție în loc de o eșantion de tampon. În FIGURILE de la 27 până la 31, liniile de control pozitiv sunt liniile superioare și oricare dintre liniile de testare, care arată prezența antigenului de ploșniță de pat, se află sub liniile de control pozitiv. Murdăria sau particule insolubile din tampon au fost prezente în apropierea fundului membranelor corespunzător pentru benzile de testare de nivel 3, 5, 7 și 8. Eșantionul de tampon de nivel 2 (nu este figurat) a afișat linii de testare vizibile de la diluția de 1/8 până la diluția de 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 3 (FIG. 27) a avut linii de testare vizibile de la diluția 1/128 până la diluția 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 4 (FIG. 28) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/1024 până la diluția 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 5 (FIG. 29) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/512 până la diluția 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 7 (FIG.30) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/4096 până la diluția 1/2. Eșantionul de tampon de nivel 8 (FIG.31) a afișat linii de testare vizibile de la diluția 1/2048 până la diluția 1/2. Deși s-au observat vizual, totuși unele dintre liniile de testare notate nu au fost ușor evidente pentru anumite diluții, așa cum este ilustrat în FIGURILE de la 27 până la 31 din cauza limitărilor fotografice. Toate liniile de testare au fost pătate. Intensitatea semnalului la diluție 1/2 a tamponului de nivel 2 a fost aproximativ egală cu aceea a diluției 1/64 a tamponului de nivel 3, a diluției 1/64 a tamponului de nivel 4, a diluției 1/64 a tamponului de nivel 5, a diluției 1/1024 a tamponului de nivel 7 și a diluției 1/512 a tamponului de nivel 8. Prin urmare, intensitatea semnalului vizibil la diluție 1/2 a tamponului de nivel 2 a fost cea mai slabă în comparație cu aceea a diluției 1/2 corespunzătoare pentru celelalte niveluri. Semnalul la diluție 1/2 a tamponului de nivel 8 a fost cel mai puternic.

Intensitățile semnalului au fost, de asemenea, determinate folosind un cititor de benzi de testare Axxin (Axxin, Fairfield, Victoria, Australia) pentru a măsura ariile liniei de testare pentru diferite concentrații (de la 1/2048 până la 1/2) ale eșantioanelor de tampon de nivel 4, 5 și 8 extrase în 350 μl de tampon 3. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 6.

**Tabelul 6:** Ariile liniei de testare pentru diferite concentrații de eșantioane de tampon (Tampon 3)

Concentrație	Aria liniei de testare					
	Nivelul 8	Nivelul 7	Nivelul 5	Nivelul 4	Nivelul 3	Nivelul 2
0	441	283	263	225	170	231
1/2048	735	781	---	---	---	---
1/1024	798	1037	270	334	---	---
1/512	1414	2003	385	574	309	261
1/256	2691	2998	422	109	403	261
1/128	4741	4665	1026	1439	522	285
1/64	7173	6912	2013	2403	724	276
1/32	9603	8746	5763	4090	1360	269

Concentrație	Aria liniei de testare					
	Nivelul 8	Nivelul 7	Nivelul 5	Nivelul 4	Nivelul 3	Nivelul 2
1/16	10377	9626	5743	5842	2430	271
1/8	11788	11767	7021	8061	3462	340
1/4	10725	8466	7120	9518	5189	406
1/2	8584	6803	9408	10413	6098	752

Datele exprimate ca Bo/B calculate din ariile liniei de testare sunt furnizate în Tabelul 7.

**Tabelul 7:** Bo/B calculat din ariile liniei de testare din diferite concentrații de eșantioanele de tampon (Tampon 3)

5

Concentrație	Bo/B					
	Nivelul 8	Nivelul 7	Nivelul 5	Nivelul 4	Nivelul 3	Nivelul 2
0	1	1	1	1	1	1
[1/2048]	0,6	0,3624	---	---	---	---
[1/1024]	0,5526	0,2729	0,9741	0,6737	---	---
[1/512]	0,3119	0,1413	0,6831	0,3920	0,5502	0,8851
[1/256]	0,1639	0,0944	0,6232	0,2064	0,4218	0,8851
[1/128]	0,0930	0,0607	0,2563	0,1564	0,3257	0,8105
[1/64]	0,0615	0,0409	0,1307	0,0936	0,2348	0,8370
[1/32]	0,0459	0,0324	0,0456	0,0550	0,1250	0,8587
[1/16]	0,0425	0,0294	0,0458	0,0385	0,0700	0,8524
[1/8]	0,0374	0,0241	0,0375	0,0279	0,0491	0,6794
[1/4]	0,0411	0,0334	0,0369	0,0236	0,0328	0,5690
[1/2]	0,0514	0,0416	0,0280	0,0216	0,0279	0,3072

Tabelele 6-7 și FIG.32A indică faptul că, în general, valorile măsurate ale tamponelor de nivel 8 au fost cele mai mari, iar valorile tamponelor de nivel 2 au fost cele mai mici. Tabelul 7 și FIG.32A indică faptul că tamponele de nivel 8 au produs intensități de semnal mai bune decât celelalte niveluri.

10

Comparația între tamponele de extracție: Pentru tamponul de extracție 1, toate liniile de testare au fost clare și nu au avut pete, în timp ce tamponele de extracție 2 și 3 au dus la linii de testare cu pete. Pentru tamponele de nivel 4, extracția cu tamponele 1 și 3 a condus la semnale care au început de la diluția 1/1024, dar extracția cu tamponul 2 a condus la semnale care au început cu diluția 1/512. Cu toate acestea, extracția nivelului 5 cu tamponul 2 a produs semnal la o concentrație mai mică (diluție 1/1024) decât extracția cu tamponul 3 (diluție 1/512). Tamponele 1 și 3 au produs semnale la aceeași concentrație pentru tamponele de nivel 3 și de nivel 7. Cu toate acestea, extracția tamponelor de nivel 2 cu tampon 1 a generat un semnal la o concentrație mai mică (diluție 1/16) decât extracția cu tampon 3 (diluție 1/8). În general, valorile măsurate ale tuturor tamponelor la nivelul de testare au fost mai mari pentru extracția cu tamponul 1 decât pentru extracția cu tamponele 2 și 3.

15

20

Studiu de precizie folosind cititorul Axxin: Au fost preparate nouă replicare ale tamponului de extracție 1 ca martor negativ și nouă replicare fiecare dintre diluțiile 1/2048, 1/512 și 1/128 ale tamponelor de nivel 7 extrase cu tamponul 1 și au fost măsurate ariile liniei de testare folosind un cititor o bandă de testare Axxin (Axxin, Fairfield, Victoria, Australia). Ariile liniei de testare sunt prezentate în Tabelul 8 și FIG. 34.

25

**Tabelul 8:** Rezultatele studiului de precizie ale ariilor ale liniilor de testare replicate

Proces	Aria liniei de testare			
	tampon 1	Nivelul 7 1/2048	Nivelul 7 1/512	Nivelul 7 1/128
1	250	1415	3299	6163

Proces	Aria liniei de testare			
	tampon 1	Nivelul 7 1/2048	Nivelul 7 1/512	Nivelul 7 1/128
2	251	1426	2794	6276
3	233	1293	2684	7305
4	289	1238	2810	8079
5	260	1202	2531	8090
6	271	1075	2401	6583
7	260	1283	2260	9109
8	218	1540	2660	8297
9	194	1444	2773	5997
Medie	247.3	1324.0	2690.2	7322.1
STDEV	28.6	144.3	295.3	1120.6
% CV	<b>11.6</b>	<b>10.9</b>	<b>11.0</b>	<b>15.3</b>

Coeficientul procentual de variație (% CV) a fost mai mic de 20%, ceea ce este o valoare bună % CV pentru măsurătorile Axxin.

## 5 Concluzie

Întinderea și domeniul de aplicare al prezentei invenții nu ar trebui să fie limitate de niciunul dintre exemplele de realizare care s-au descris mai sus, ci ar trebui să fie definite numai în conformitate cu revendicările care urmează.

### (56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- ROSLER, ES ET AL.: 'An in vivo competitive repopulation assay for various sources of human hematopoietic stem cells.' BLOOD. vol. 96, no. 10., 2000, pages 3414 - 3421, XP055376487
- WO-A1-99/64863
- JANEWAY, JR, CA ET AL.: 'The structure of a typical antibody molecule.' IMMUNOBIOLOGY: THE IMMUNE SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE., [Online] 2001, page 1, XP055376492 Retrieved from the Internet: <URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/ NBK27144> [retrieved on 2016-12-13]
- WO-A1-2013/130613
- WO-A2-2013/096817
- US-A1- 2004 152 208
- US-A1- 2010 120 061
- US-A1- 2014 234 949
- US-B2- 8 375 626

### (57) Revendicări:

1. O metodă pentru analizarea unui fluid de testare pentru a determina infestările anterioare sau prezente ale ploșnițelor de pat, care cuprinde:

primirea, de către un dispozitiv de detectare, a fluidului de testare în apropierea unei prime extremități a unei benzi cu reactiv în interiorul dispozitivului de detectare, în care fluidul de testare curge pe lângă o parte cu reactiv a benzii cu testare, care conține particule colorate și printr-o parte de reacție a benzii de testare, în care partea cu reactiv conține un anticorp sau un fragment care leagă-antigenul acestuia care este conjugat cu o particulă colorată, și în care anticorpul conjugat sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia conjugat este capabil să lege un antigen de ploșniță de pat din

fluidul de testare pentru a forma o moleculă de ploșniță de pat, în care anticorpul este generat de către hibridomul depus la autoritatea American Type Culture Collection (ATCC) sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau sub numărul de acces PTA-122645 [BB7];

monitorizarea, printr-un prim senzor optic din cadrul dispozitivului de detectare, a intensității culorii de reacție a părții de reacție a benzii de testare, în care un anticorp imobilizat sau un fragment care leagă-antigenul acestuia imobilizat în partea de reacție, care leagă molecula de ploșniță de pat crește intensitatea culorii de reacție, în care anticorpul este generat de un hibridom depus la autoritatea American Type Culture Collection (ATCC) sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau sub numărul de acces PTA-122645 [BB7];

monitorizarea, printr-un al doilea senzor optic din cadrul dispozitivului de detectare, a intensității culorii de fundal a unei părți a benzii de testare din apropierea părții de reacție;

determinarea, de către dispozitivul de detectare, a faptului că o cantitate inițială de fluid de testare a trecut prin partea de reacție având la bază intensitatea culorii de reacție monitorizată și intensitatea culorii de fundal monitorizată;

determinarea, de către dispozitivul de detectare, a faptului că o cantitate dată de particule colorate din partea cu reactiv a trecut prin partea de reacție având la bază intensitatea culorii de reacție monitorizată și intensitatea culorii de fundal monitorizată;

detectarea, de către dispozitivul de detectare, a faptului că întârzierea predeterminată s-a scurs deoarece s-a determinat faptul că, o cantitatea dată de particule colorate a trecut prin partea de reacție;

determinarea, de către dispozitivul de detectare, a unui rezultat al profilului ploșniței de pat cu ajutorul intensităților de culoare monitorizate și a pragurilor de intensitate a culorii minimă și maximă, întârzierea predeterminată, pragul minim de intensitate a culorii și pragul maxim de intensitate a culorii fiind stocate într-o memorie a dispozitiv de detectare, și rezultatul profilului ploșniței de pat indică dacă a fost detectată o prezență a ploșniței de pat în fluidul de testare; și

transmiterea, de către dispozitivul de detectare, a rezultatului profilului ploșniței de pat folosind un afișaj vizual.

2. Metodă conform revendicării 1, care cuprinde, în plus, anterior determinării cantității inițiale de fluid de testare:

determinarea că prima citire în curs a senzorului, de la primul senzor optic, s-a decalat cu un decalaj față de prima citire inițială a primului senzor al primului senzor optic; și

recalibrarea citirii inițiale a primului senzor și a celei de-a doua citiri inițiale a celui de-al doilea senzor al celui de-al doilea senzor optic.

3. Metodă conform revendicării 1, în care determinarea rezultatului profilului ploșniței de pat cuprinde:

calculul unei diferențe de intensitate a culorii folosind intensitățile de culoare monitorizate; și atunci când întârzierea predeterminată s-a scurs, compararea diferenței de intensitate a culorii cu pragurile minime sau maxime de intensitate a culorii pentru a determina rezultatul profilului ploșniței de pat, în care întârzierea predeterminată este specifică ploșnițelor de pat.

4. Metodă conform revendicării 3, în care determinarea rezultatului profilului ploșniței de pat cuprinde, în plus:

determinarea faptului că antigenul ploșniței de pat este prezent în fluidul de testare atunci când diferența de intensitate a culorii atinge sau depășește pragul maxim de intensitate a culorii;

determinarea faptului că antigenul ploșniței de pat este absent în fluidul de testare atunci când diferența de intensitate a culorii atinge sau scade sub pragul minim de intensitate a culorii; și

determinarea faptului că nu poate să fie determinat niciun rezultat al profilului ploșniței de pat atunci când diferența de intensitate a culorii este cuprinsă între pragurile minime și maxime ale intensității de culoare.

5. Metodă conform revendicării 1, care cuprinde, în plus:

stocarea întârzierii predeterminate, a pragului minim de intensitate a culorii și a pragului maxim de intensitate a culorii într-un profil de dăunător din memorie, în care profilul dăunătorului include parametri specifici ploșnițelor de pat; și

utilizarea profilul dăunătorului pentru a determina dacă s-a detectat prezența ploșnițelor de pat în fluidul de testare.

6. Metoda conform revendicării 1,

(a) în care fragmentul care leagă-antigenul conjugat și fragmentul care leagă-antigenul imobilizat cuprind regiuni care determină complementaritatea lanțului greu și a lanțului ușor sau

(b) în care anticorpus imobilizat sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia este de același tip ca și anticorpus conjugat sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia, sau

(c) în care anticorpus conjugat sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia și anticorpus imobilizat sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia sunt capabili să se lege la un antigen de ploșniță de pat într-un lizat de ploșnițe de pat întregi sau într-un extract pe hârtie de colectare care cuprinde reziduuri de ploșnițe de pat.

7. Metodă conform revendicării 1, în care particula colorată conjugată este selectată din grupul care constă din aur coloidal, microsferă de latex și markeri fluorescenți.

8. Un dispozitiv de detectare destinat pentru analiza unui fluid de testare pentru a determina infestările anterioare sau prezente de ploșnițe de pat, care cuprinde:

o memorie care stochează un profil de ploșniță de pat, în care profilul ploșniței de pat include: o întârziere predeterminată, un prag minim de intensitate a culorii și un prag maxim de intensitate a culorii;

o bandă de testare care cuprinde, în ordine, un prim capăt, o parte cu reactiv care conține particule colorate, o parte de reacție și cel de-al doilea capăt, banda de testare configurată pentru a primi fluidul de testare în apropierea primului capăt, în care fluidul de testare primit curge pe lângă partea cu reactiv a benzii de testare și prin partea de reacție a benzii de testare către cel de-al doilea capăt, în care partea cu reactiv conține un anticorpus sau un fragment care leagă-antigenul acestuia, care este conjugat cu o particulă colorată și în care anticorpus conjugat sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia conjugat sunt capabile să lege un antigen de ploșniță de pat din fluidul de testare pentru a forma o moleculă de ploșniță de pat, în care anticorpus este generat de un hibridom depus la American Type Culture Collection (ATCC) sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau de acces Număr PTA-122645 [BB7];

un prim senzor optic, care este montat vizavi de partea de reacție a benzii de testare, configurat pentru a monitoriza intensitatea culorii de reacție a părții de reacție a benzii de testare, în care un anticorpus sau un fragment care leagă-antigenul acestuia, care sunt imobilizați în interiorul părții de reacție, leagă molecula ploșniței de pat crescând intensitatea culorii de reacție, în care anticorpus este generat de hibridomul depus la autoritatea American Type Culture Collection (ATCC) sub numărul de acces PTA-122644 [BB2] sau sub numărul de acces PTA-122645 [BB7];

cel de-al doilea senzor optic, care este montat vizavi de partea benzii de testare în apropierea părții de reacție, configurat să monitorizeze intensitatea culorii de fundal a părții de bandă de testare din apropierea părții de reacție;

un afișaj vizual; și

cel puțin un procesor cuplat la memorie, la primul senzor și la cel de-al doilea senzor, procesorul fiind configurat:

să determine faptul că o cantitate inițială de fluid de testare a trecut prin partea de reacție, luând în considerație intensitatea culorii de reacție monitorizată și intensitatea culorii de fundal monitorizată;

să determine faptul că o cantitate dată de particule colorate din partea cu reactiv a trecut prin partea de reacție luând în considerație intensitatea culorii de reacție monitorizată și intensitatea culorii de fundal monitorizată;

să detecteze faptul că întârzierea predeterminată s-a scurs de la determinarea faptului că, o cantitate dată de particule colorate a trecut prin partea de reacție;

determinarea unui rezultat al profilului de ploșniță de pat utilizând intensitățile de culoare monitorizate și pragurile minime și maxime ale intensității de culoare, în care rezultatul profilului de ploșniță de pat indică dacă a fost detectată o prezență de ploșnițe de pat în fluidul de testare; și

afișarea rezultatului profilului de ploșniță de pat folosind afișajul vizual.

9. Dispozitiv de detectare conform revendicării 8, în care cel puțin un procesor este de asemenea configurat pentru, ca înainte de a determina faptul că o cantitate inițială de fluid de testare a trecut prin partea de reacție:

să determine că o citire a primului senzor în curs provenind de la primul senzor optic s-a decalat cu un decalaj de la o citire inițială a primului senzor al primului senzor optic; și

să recalibreze citirea inițială a primului senzor și o citire inițială a celui de-al doilea senzor al celui de-al doilea senzor optic.

10. Dispozitiv de detectare conform revendicării 8, în care cel puțin un procesor este de asemenea configurat pentru a determina rezultatul profilului de ploșniță de pat:

prin calculul unei diferențe de intensitate a culorii folosind intensitățile de culoare monitorizate; și

atunci când întârzierea predeterminată s-a scurs, compararea diferenței de intensitate a culorii cu pragurile minime sau maxime de intensitate a culorii pentru a determina rezultatul profilului de ploșniță de pat, în care întârzierea predeterminată este specifică ploșnițelor de pat.

11. Dispozitiv de detectare conform revendicării 10, în care cel puțin un procesor este de asemenea configurat pentru a determina rezultatul profilului de ploșniță de pat:

prin determinarea faptului că antigenul de ploșniță este prezent în fluidul de testare, atunci când diferența de intensitate a culorii atinge sau depășește pragul maxim de intensitate a culorii;

prin determinarea faptului că antigenul de ploșniță este absent în fluidul de testare atunci când diferența de intensitate a culorii atinge sau scade sub pragul minim de intensitate a culorii; și

determinarea faptului că nu poate să fie determinat niciun rezultat al profilului ploșniței atunci când diferența de intensitate a culorii este cuprinsă între pragurile minime și maxime de intensitate a culorii.

12. Dispozitiv de detectare conform revendicării 8, în care cel puțin un procesor este de asemenea configurat pentru:

a stoca întârzierea predeterminată, pragul minim de intensitate a culorii și pragul maxim de intensitate a culorii într-un profil al dăunătorului din memorie, în care profilul dăunătorului include parametri specifici ploșnițelor de pat; și

a utiliza profilul dăunătorului pentru a determina dacă prezența ploșnițelor de pat este detectată în fluidul de testare.

13. Dispozitiv de detectare conform revendicării 8,

(a) în care fragmentul care leagă-antigenul conjugat și fragmentul care leagă-antigenul imobilizat cuprind regiuni care determină complementaritatea lanțului greu și a lanțului ușor sau

(b) în care anticorpul sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia imobilizați sunt de același tip ca și anticorpul sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia conjugați, sau

(c) în care anticorpul sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia conjugați și anticorpul sau fragmentul care leagă-antigenul acestuia imobilizați sunt capabili să lege un antigen de ploșniță de pat într-un lizat de ploșnițe de pat întregi sau într-un extract pe hârtie de colectare care cuprinde reziduuri de ploșnițe de pat.

14. Dispozitiv de detectare conform revendicării 8, în care particula colorată conjugată este selectată din grupul care constă din aur coloidal, microsferă de latex și markeri fluorescenți.

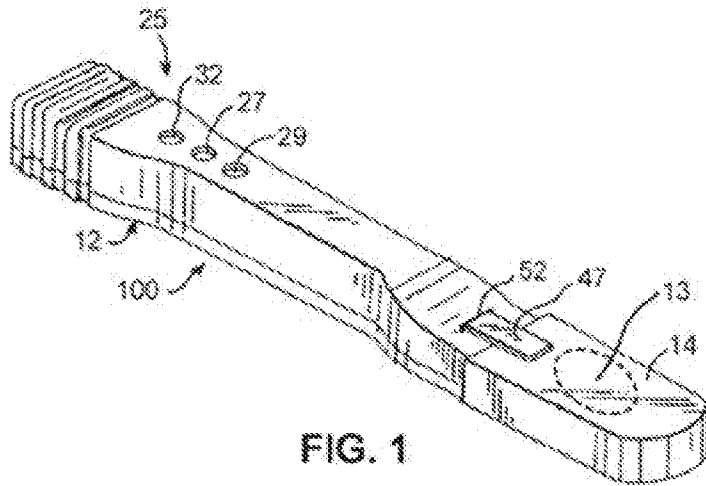


FIG. 1

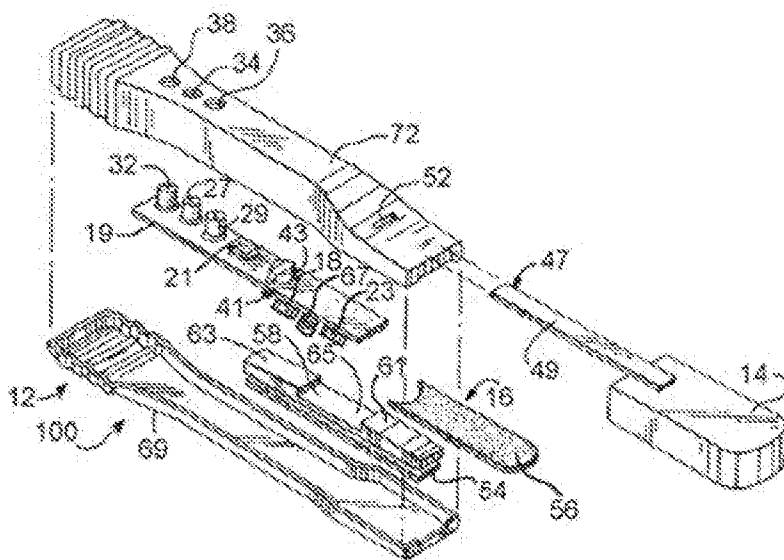


FIG. 2

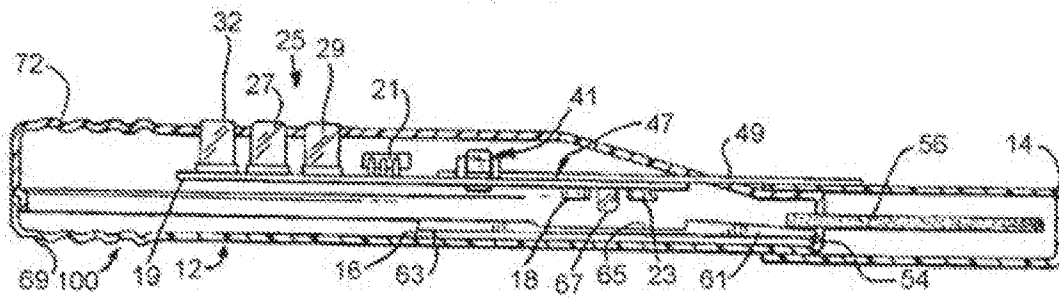


FIG. 3

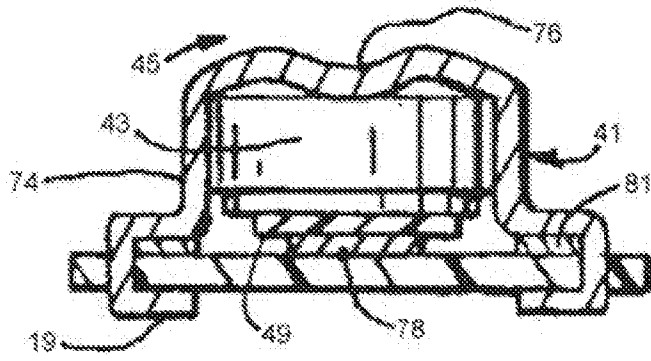


FIG. 4

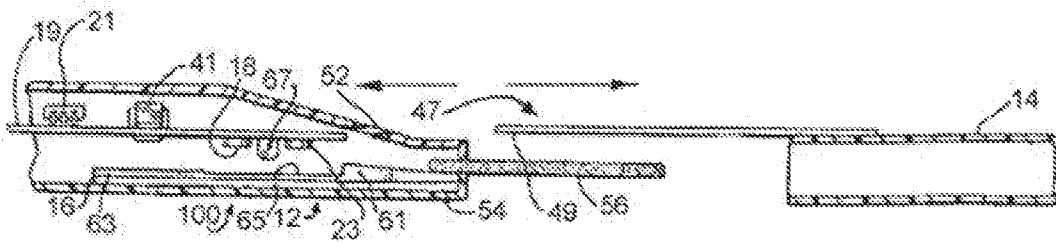


FIG. 5

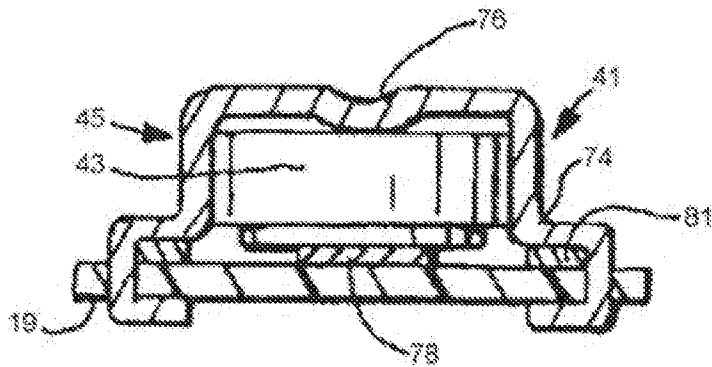


FIG. 6

700

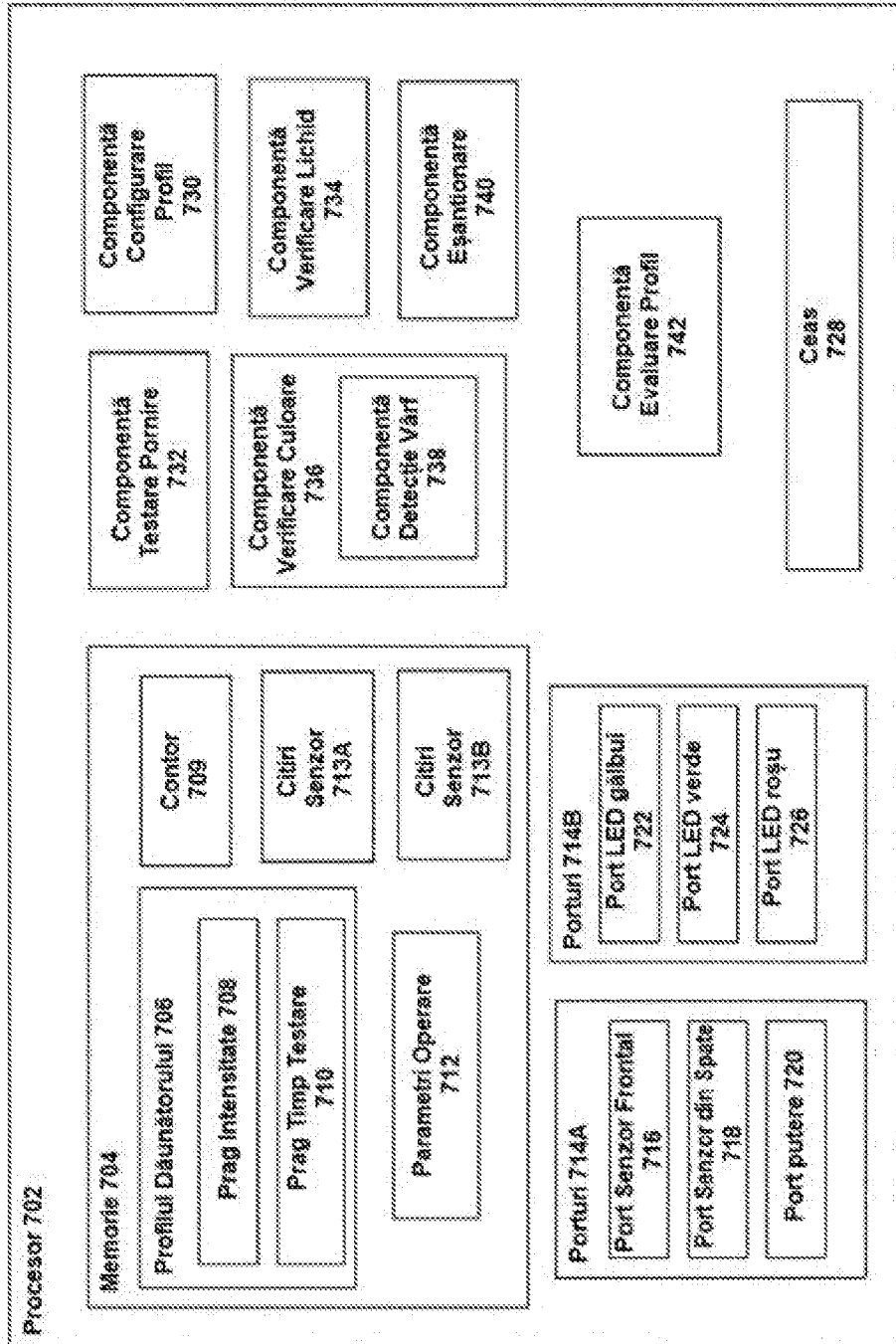


FIG. 7

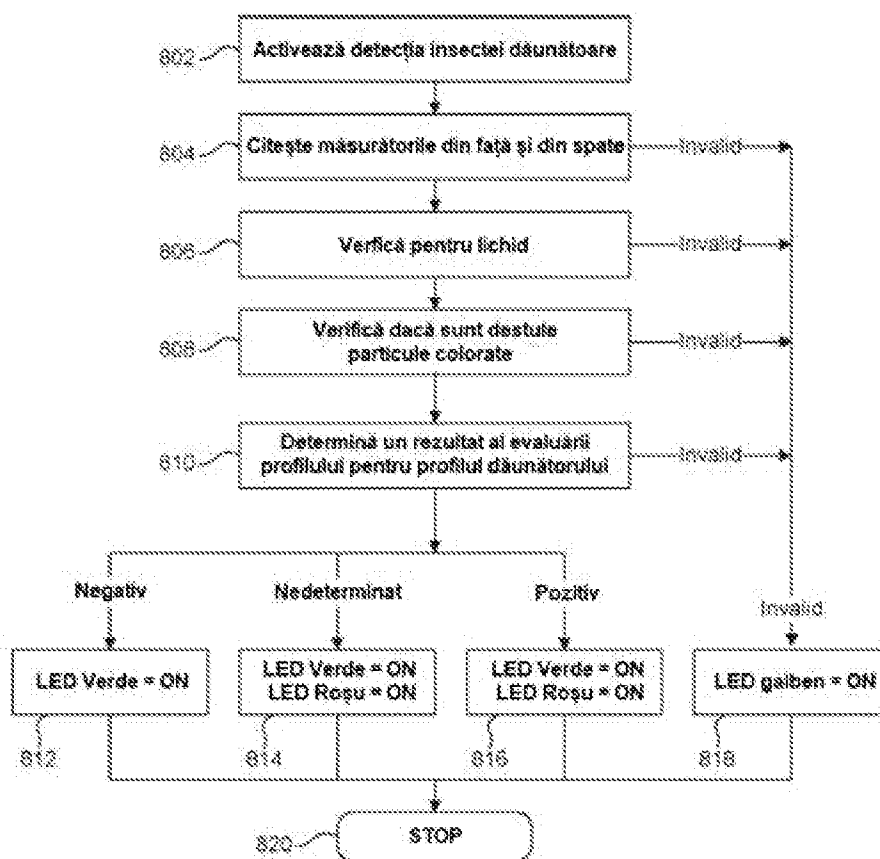


FIG. 8

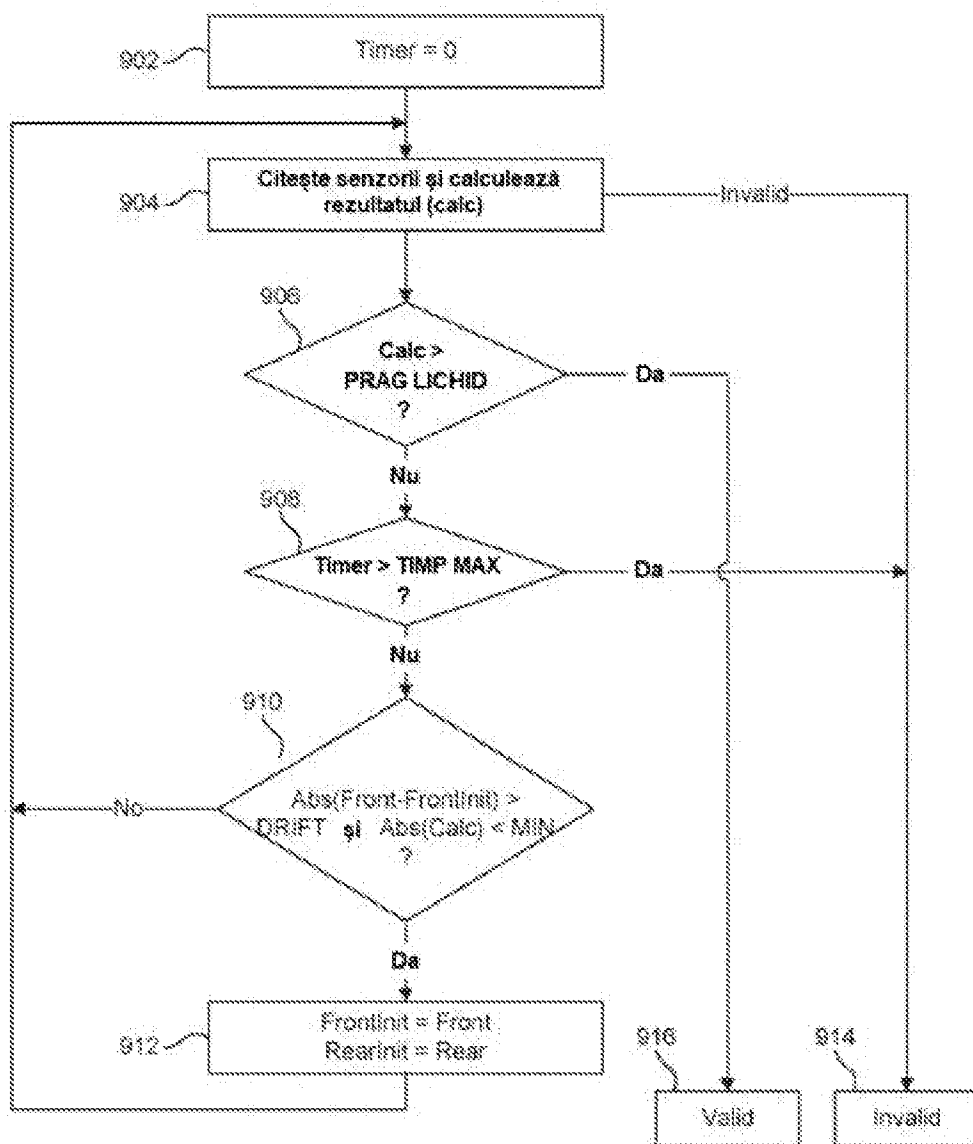


FIG. 9

1000

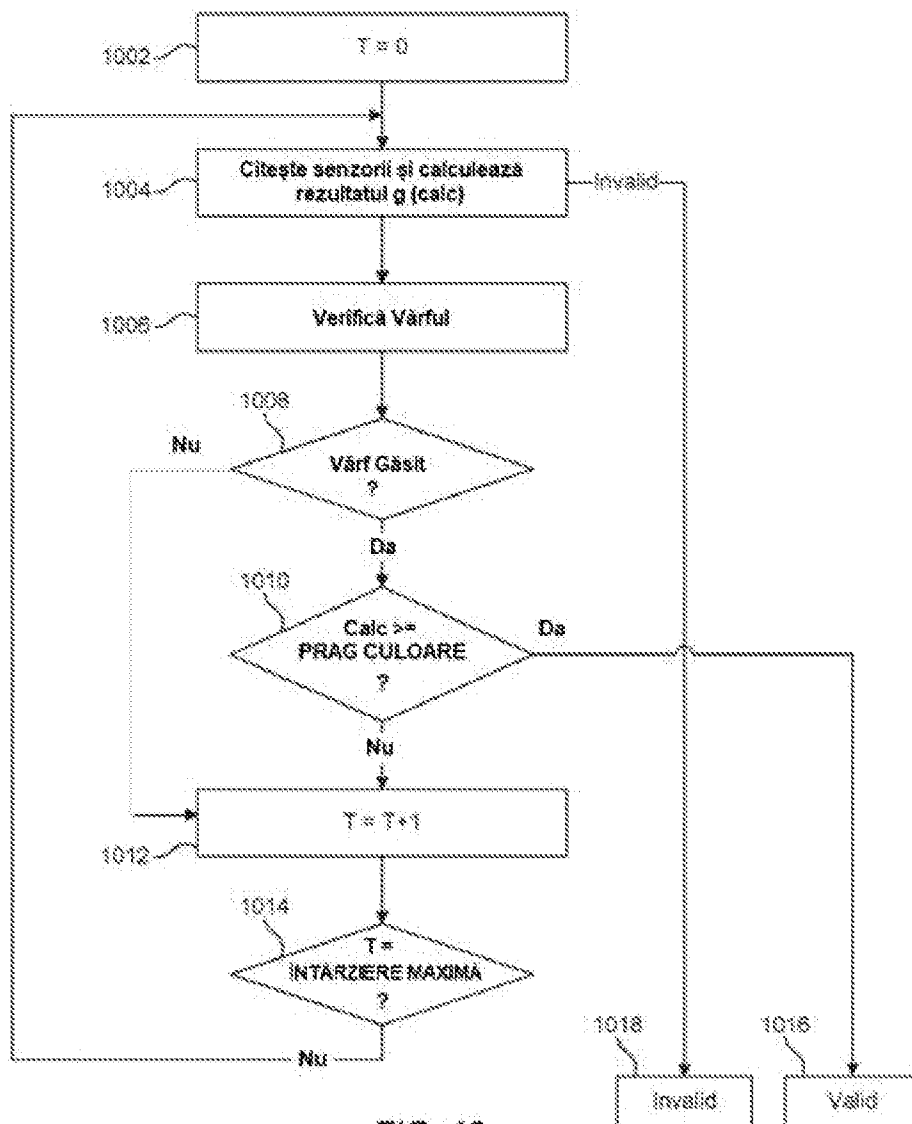


FIG. 10

1100

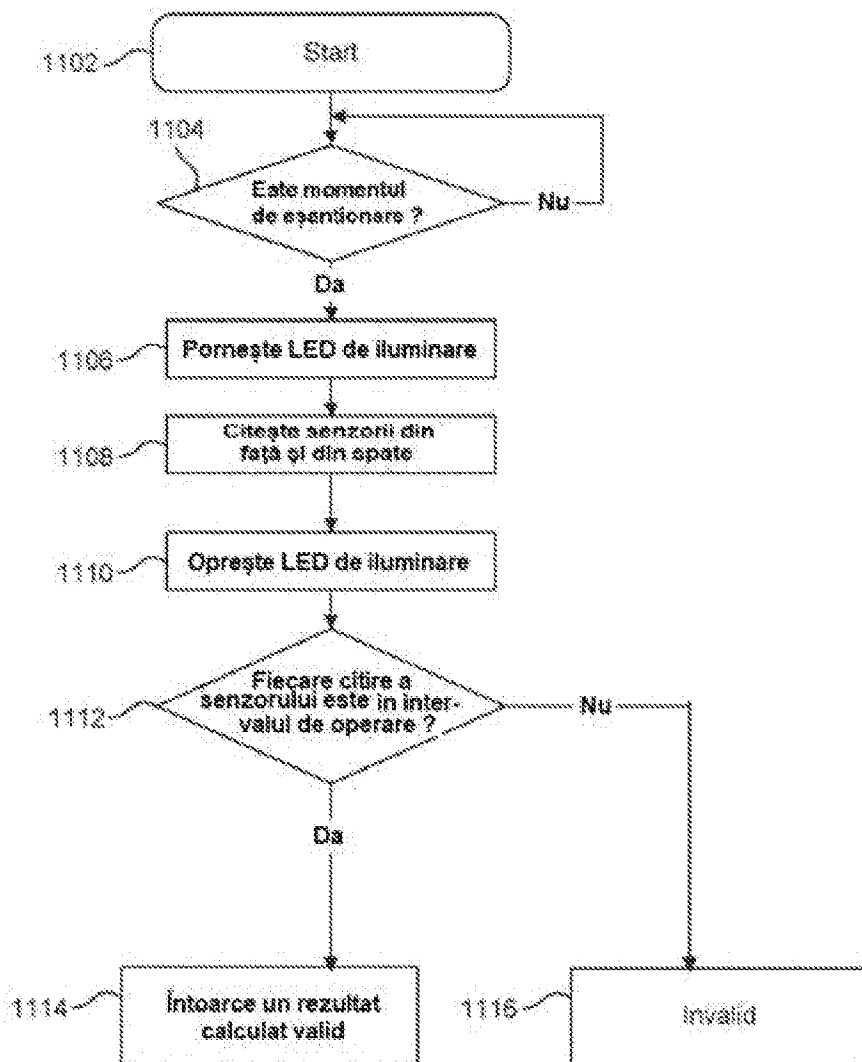


FIG. 11

1200

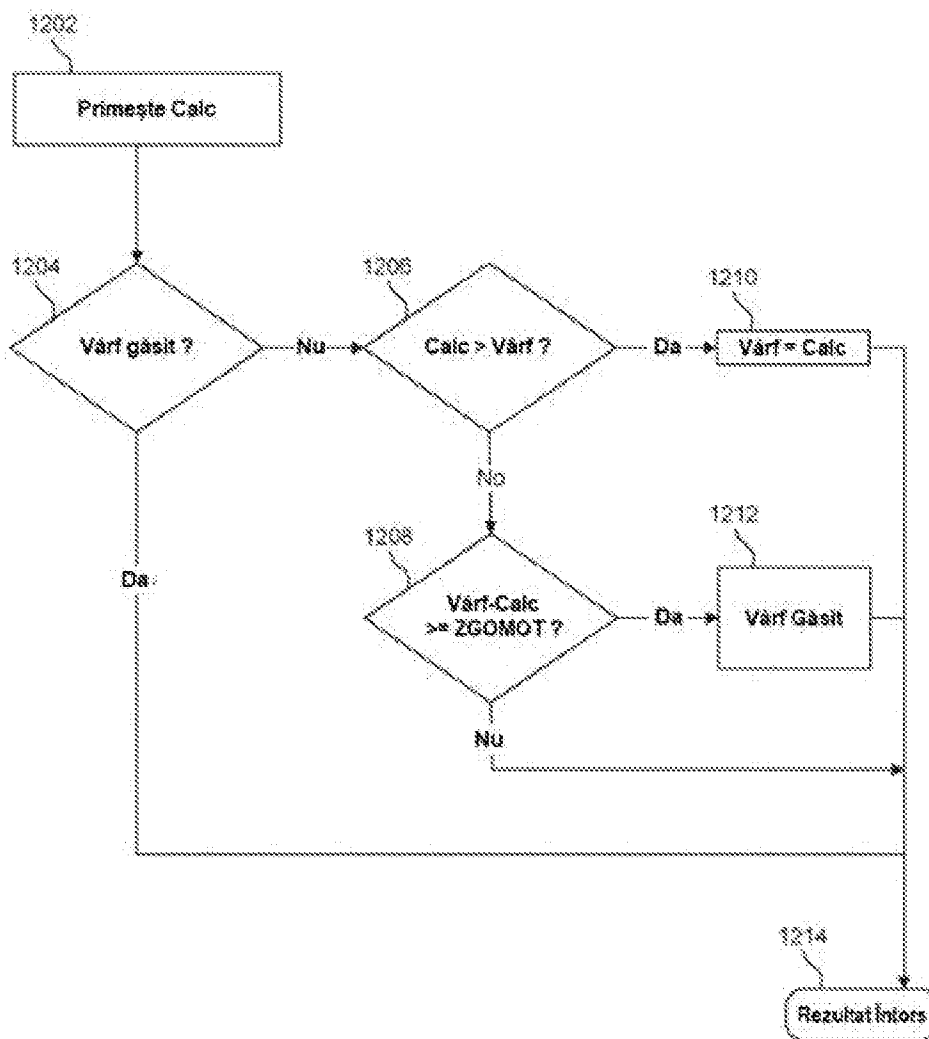


FIG. 12

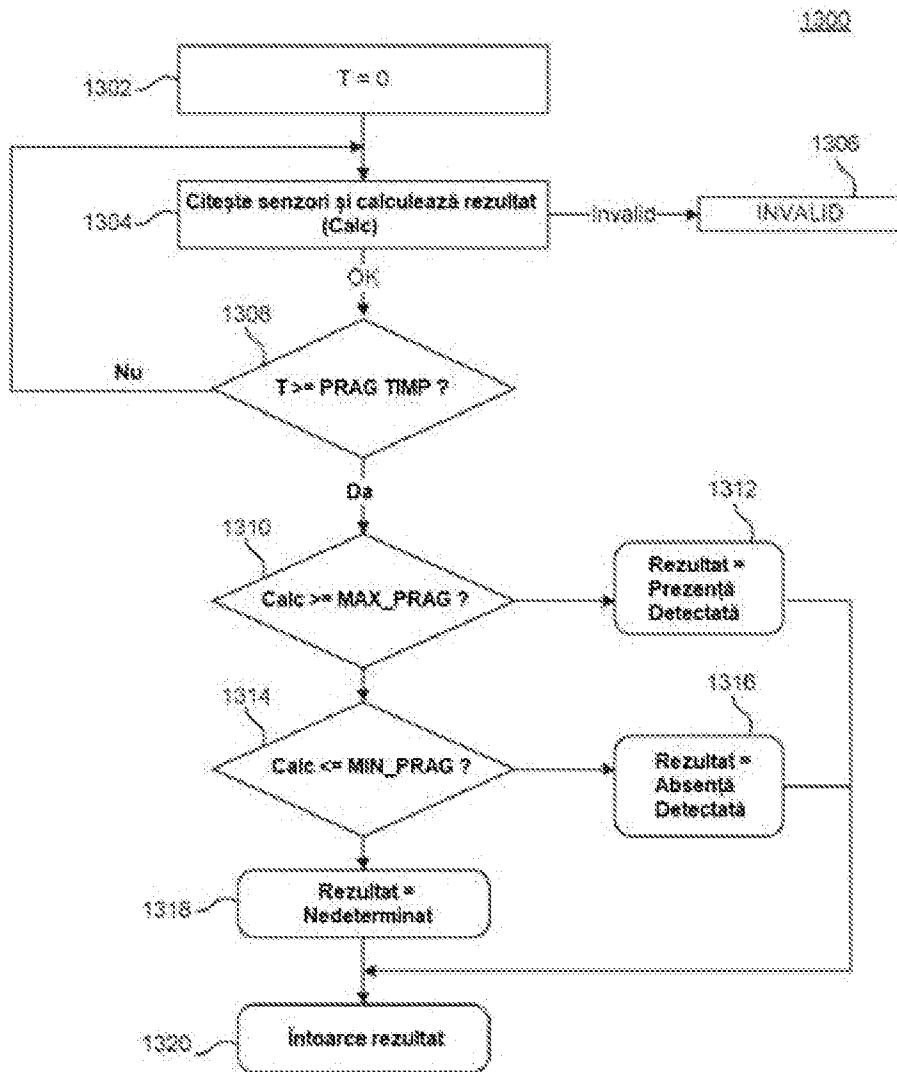
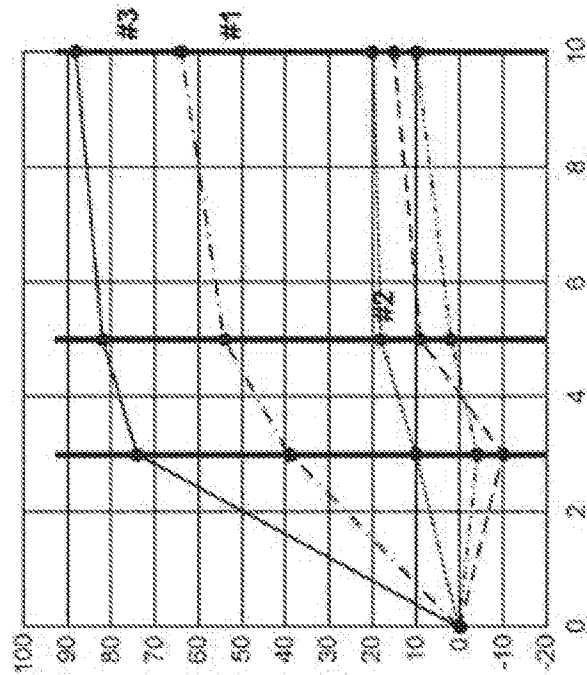


FIG. 13

1402

Momentele de Timp la 0, 3, 5 și 10 minute  
versus Valoarea Intensității Infestării



Valoare Intensitate Infestare

Teste Analiză	Tip	3 min	5 min	10 min
1	Med	39	54	64
2	Scăzut	10	18	20
3	Ridicat	74	82	68
6		-4	2	10
8		-10	9	15

FIG. 14

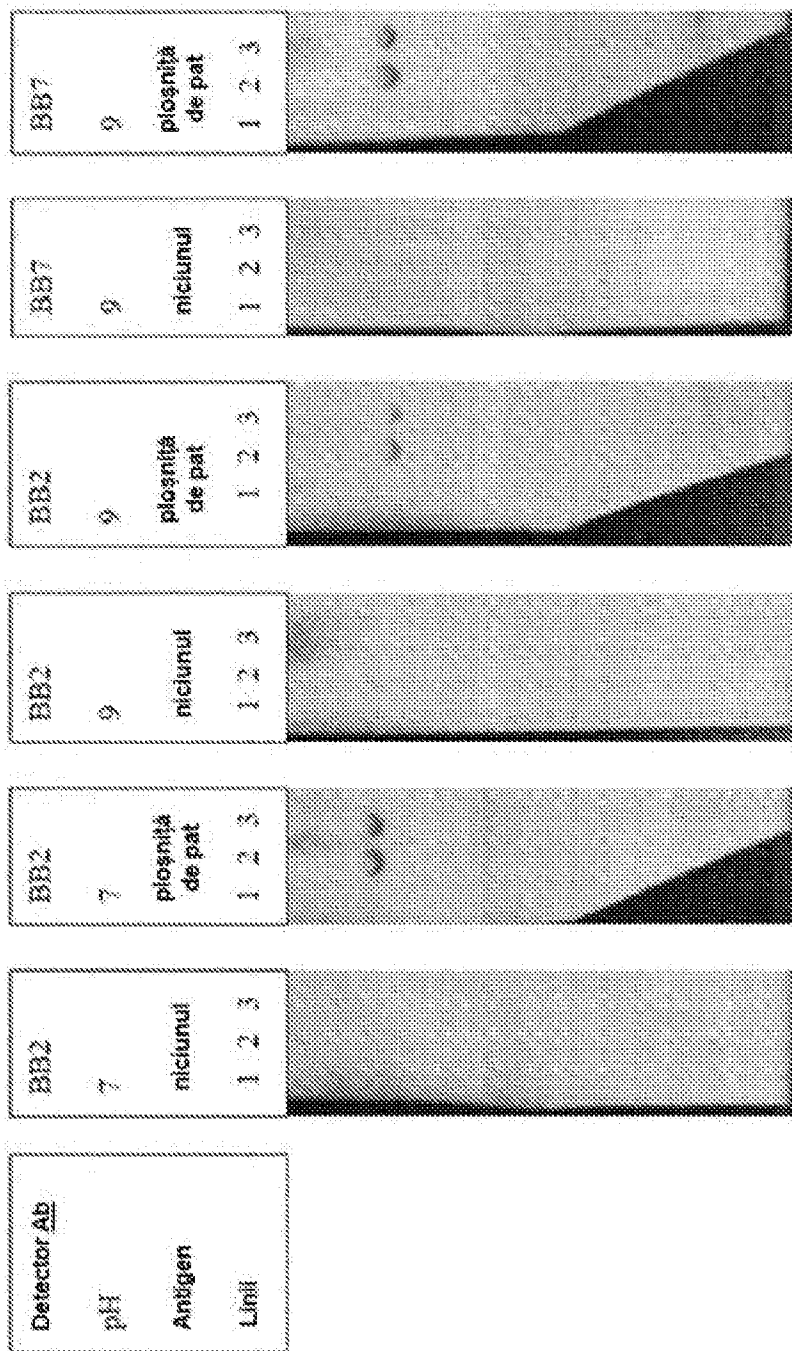


FIG. 15

Exantion de Tampon de Nivel 0 (Nicio Ploșniță de Pat) Extras în 350 μl de Soluție Tampon de Extracție 1

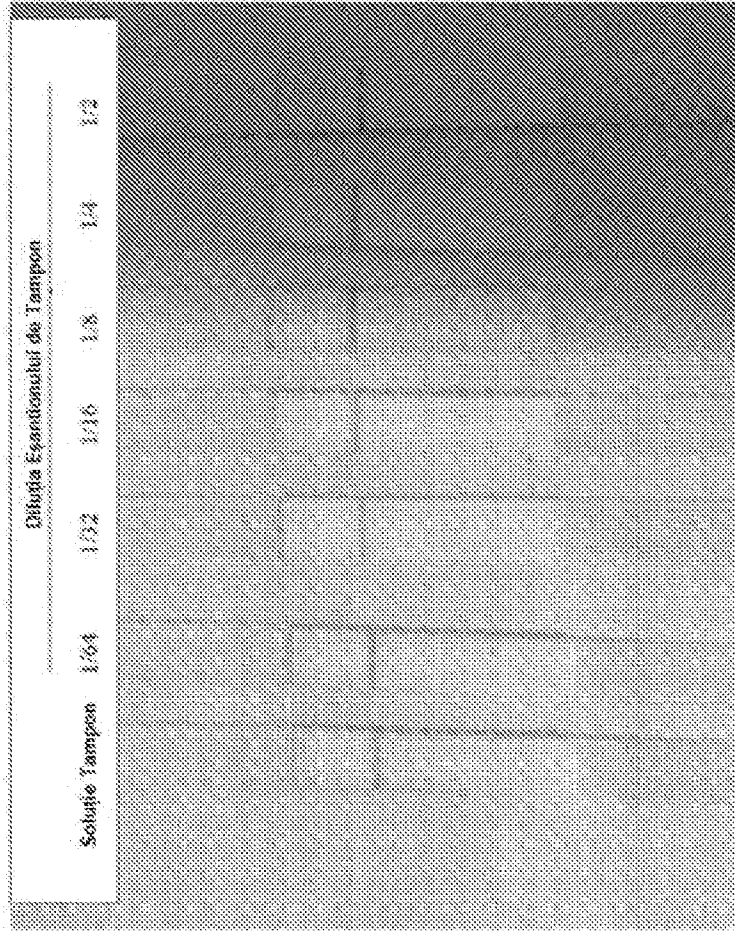


FIG. 16

Eșantion de Tampon de Nivel 2 Extras în 350 µl de Soluție Tampon de Extracție 1

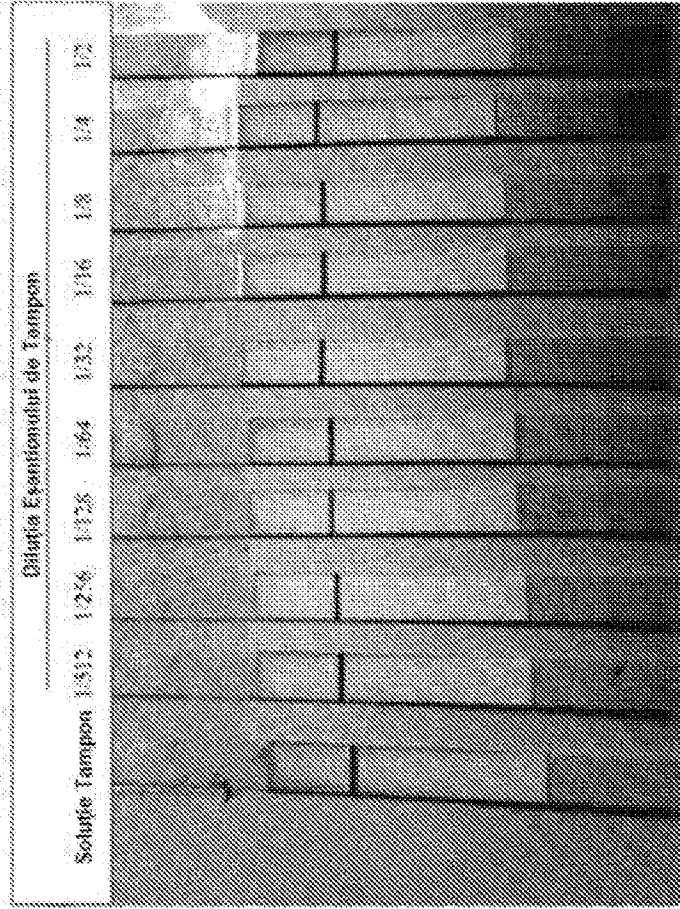


FIG. 17

Eșantion de Tampon de Nivel 3 Extras în 350  $\mu$ l de Soluție Tampon de Extracție f

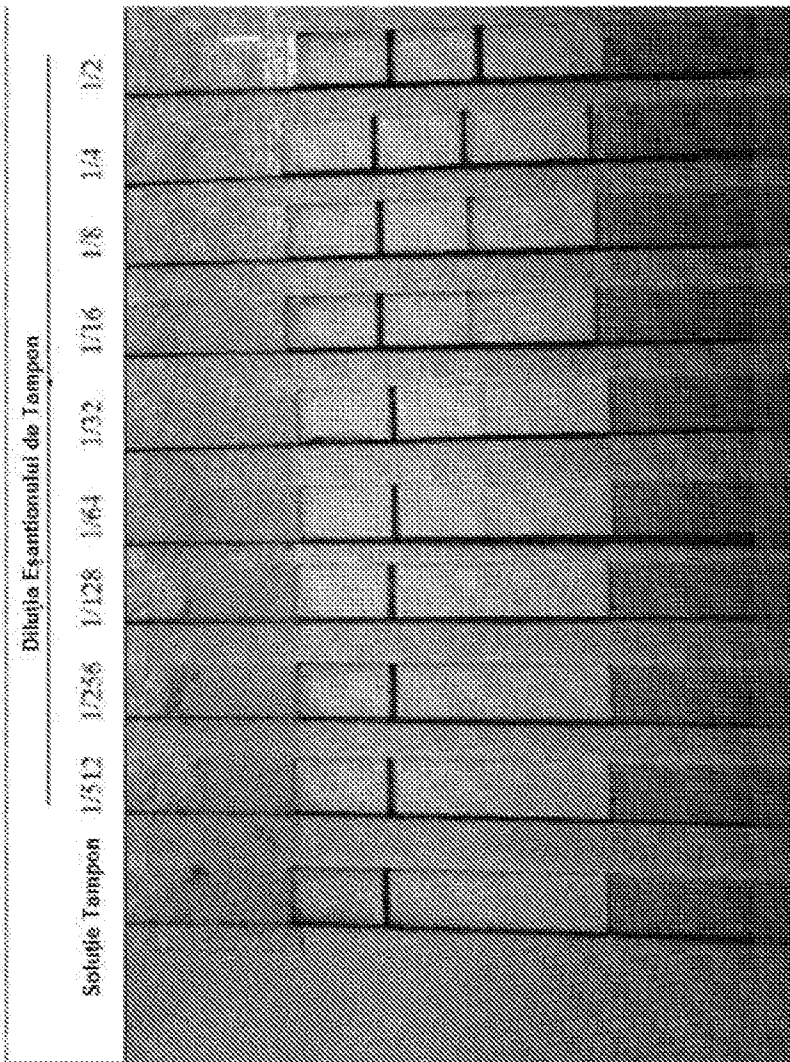


FIG. 18

Eșantion de Tampon de Nivel 4 Extras în 350 ml de Soluție Tampon de Extracție 1

Soluție Tampon		Diluția Eșantionului de Tampon											
		1:2024	1:812	1:256	1:128	1:64	1:32	1:16	1:8	1:4	1:2		

FIG. 19

Eșanțion de Tampon de Nivel 7 Extras în 360 μl de Soluție Tampon de Extracție 1

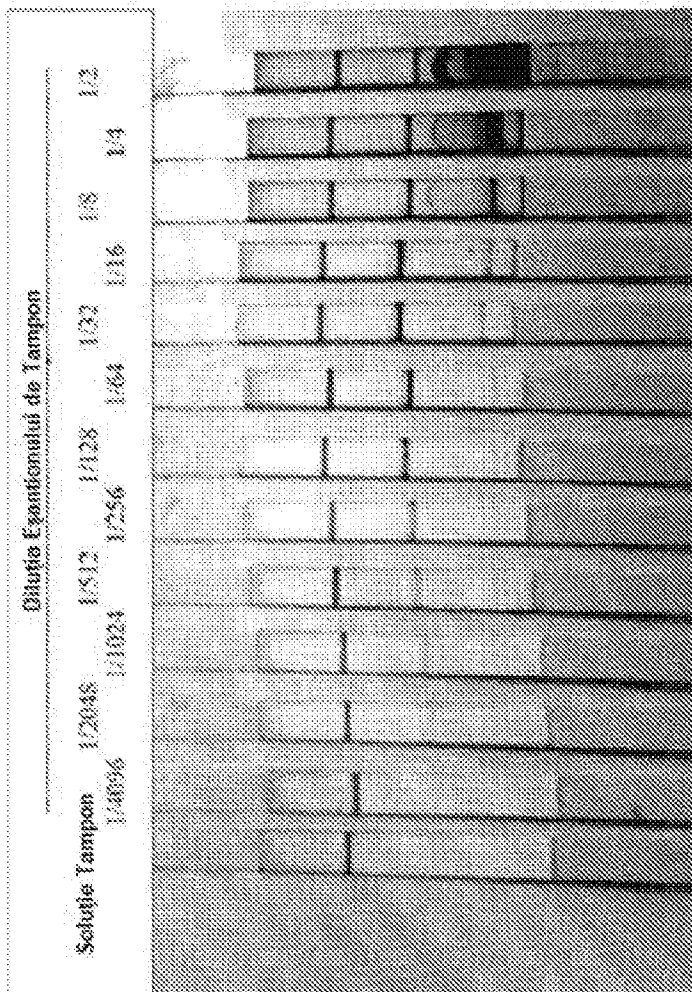


FIG. 20

Esantion de Tampon de Nivel 8 Extras in 350 ul de Soluție Tampon de Extracție 1

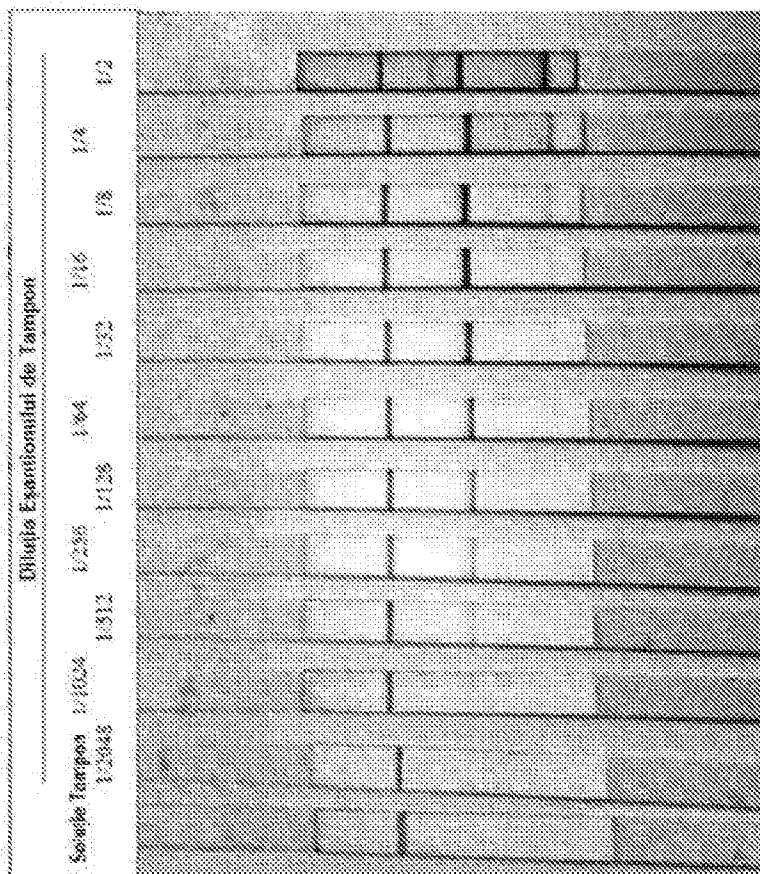


FIG. 21

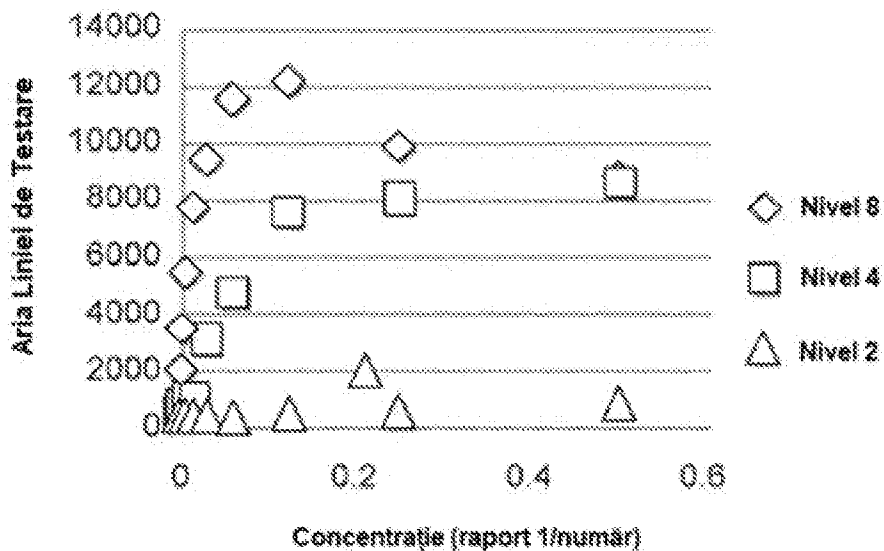


FIG. 22A

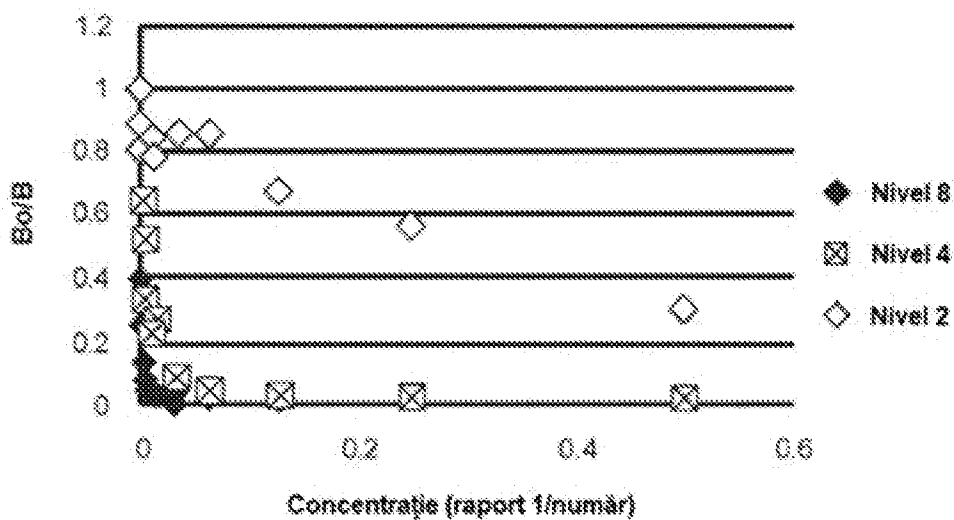


FIG. 22B





Eșantion de Tampon de Nivel 8 Extras în 350 µl de Soluție Tampon de Extracție 2

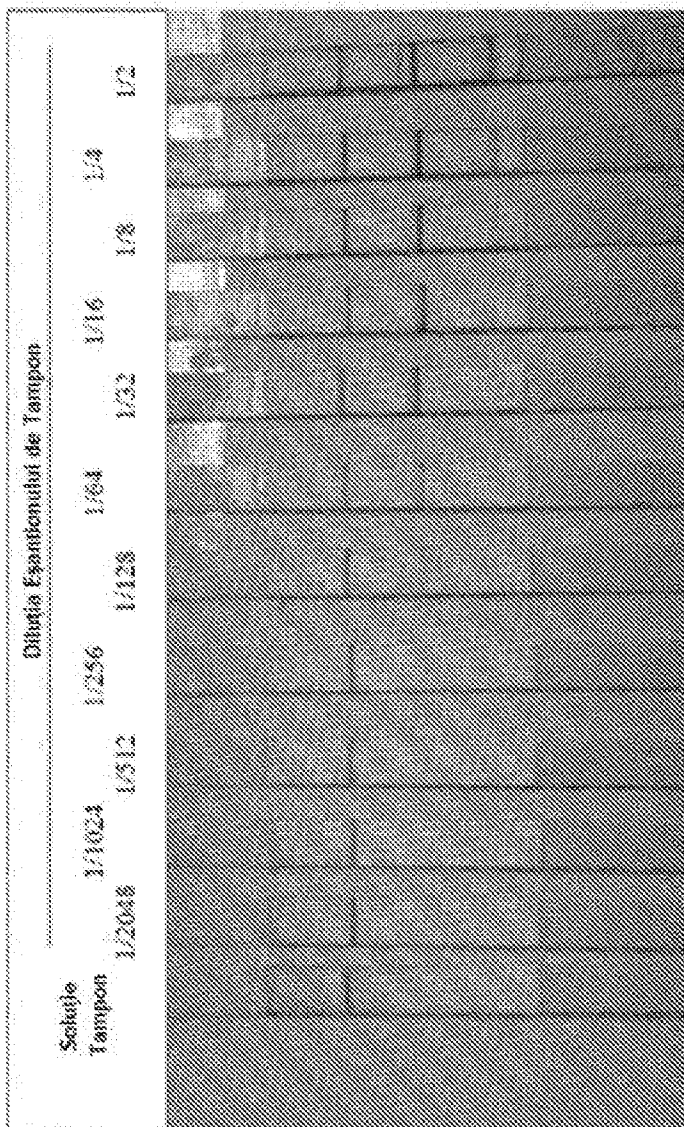


FIG. 25

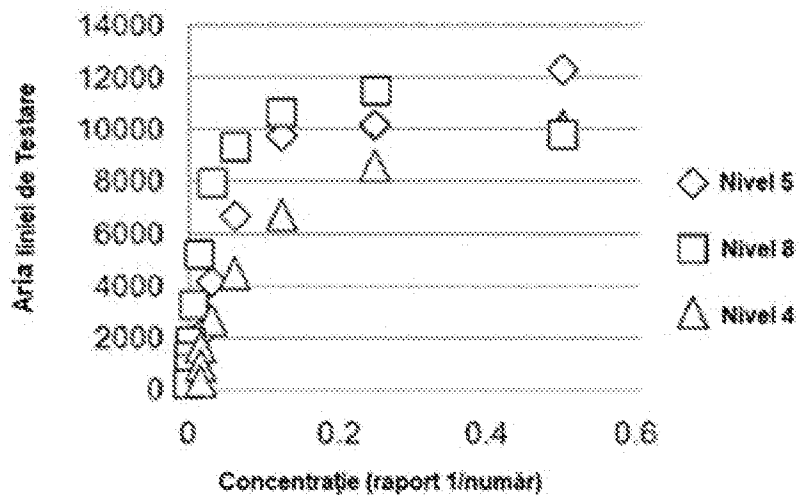


FIG. 26A

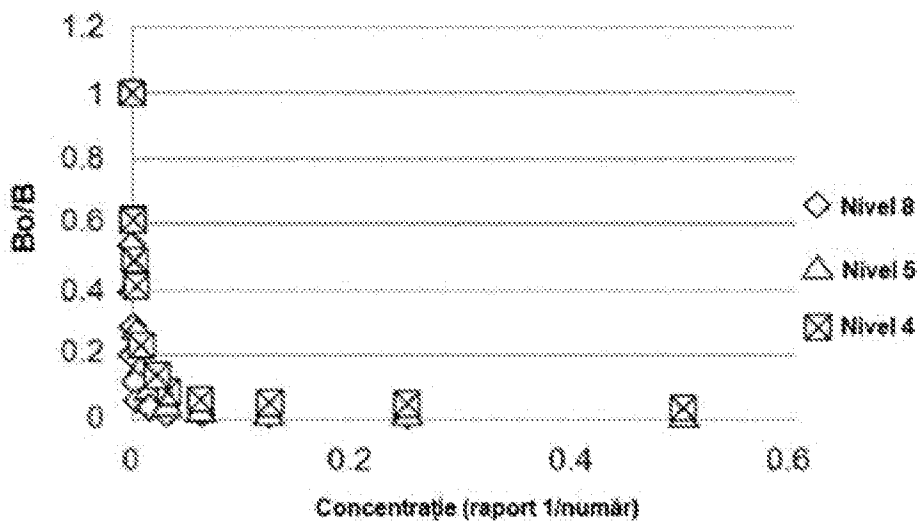


FIG. 26B

Eșantion de Tampon de Nivel 3 Extras în 350 μl de Soluție Tampon de Extracție 3

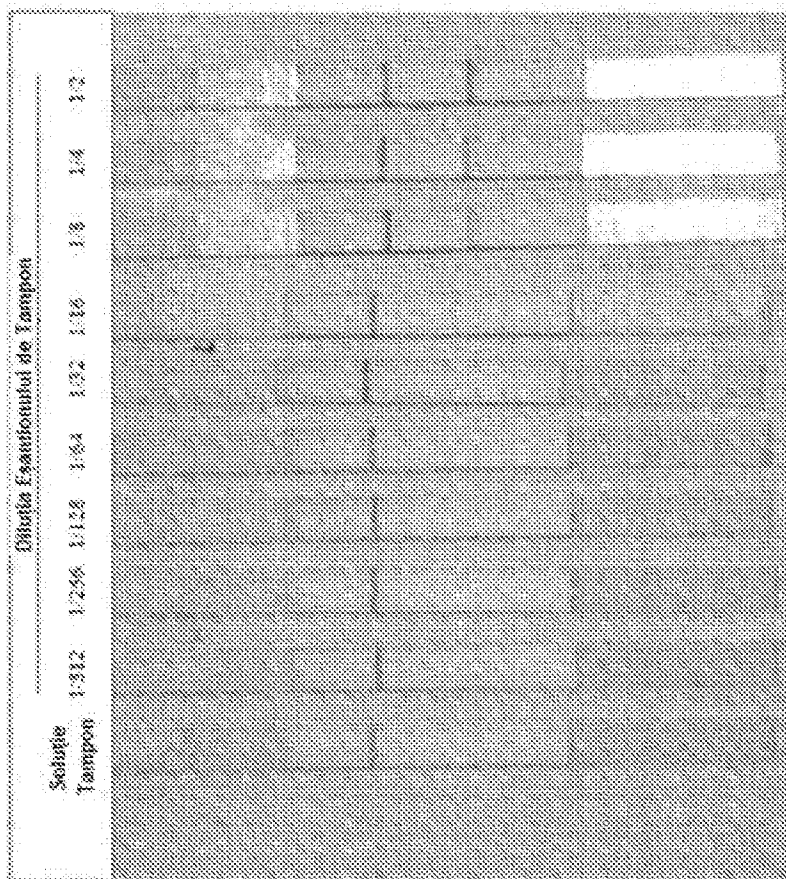


FIG. 27

Eșantion de Tampon de Nivel 4 Extras în 350 µl de Soluție Tampon de Extracție 3

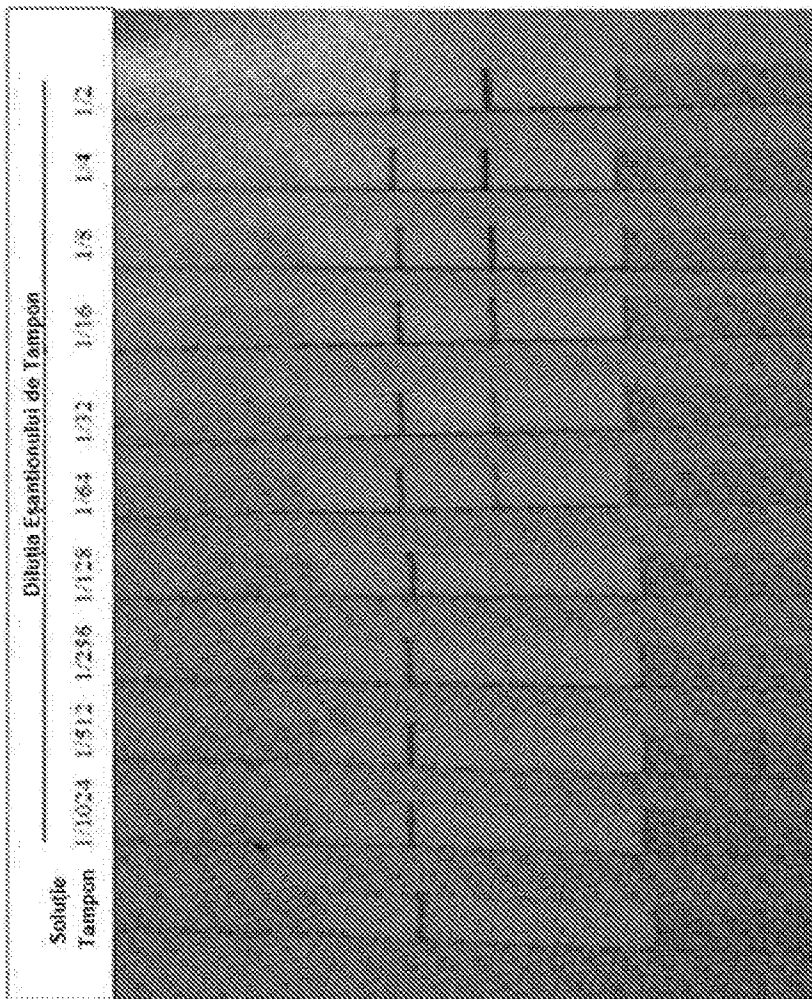


FIG. 28

Eșantion de Tampon de Nivel 6 Extras în 350 μl de Soluție Tampon de Extracție 3

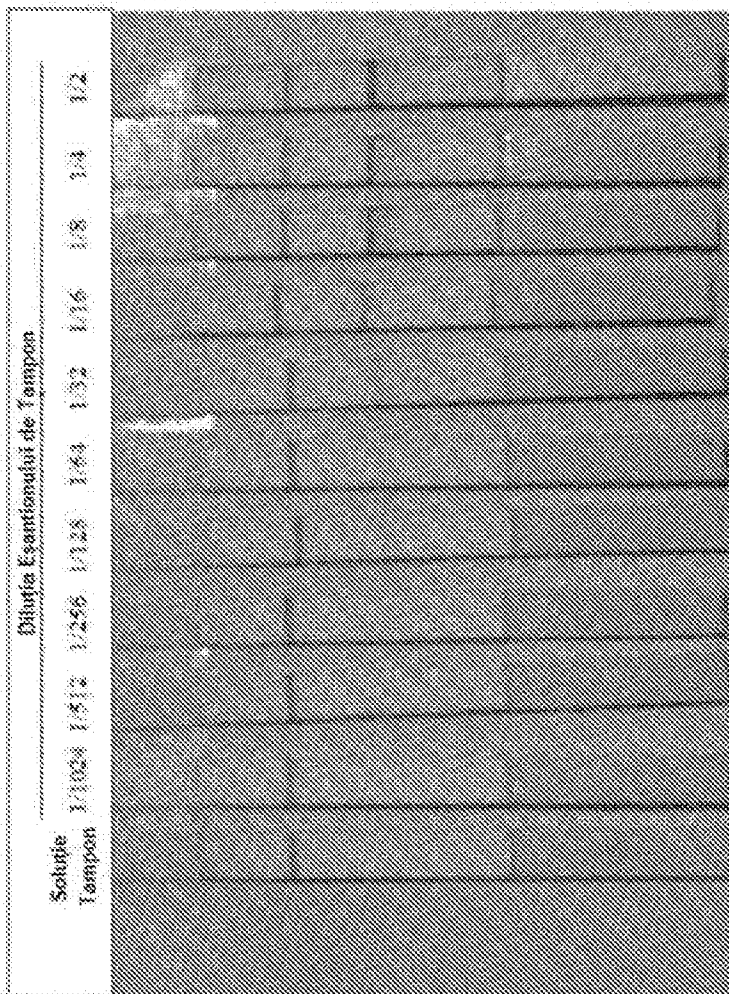


FIG. 29

Expansió de Tampon de Nivel 7 Extras în 350 ml de Soluție Tampon de Extracție 3

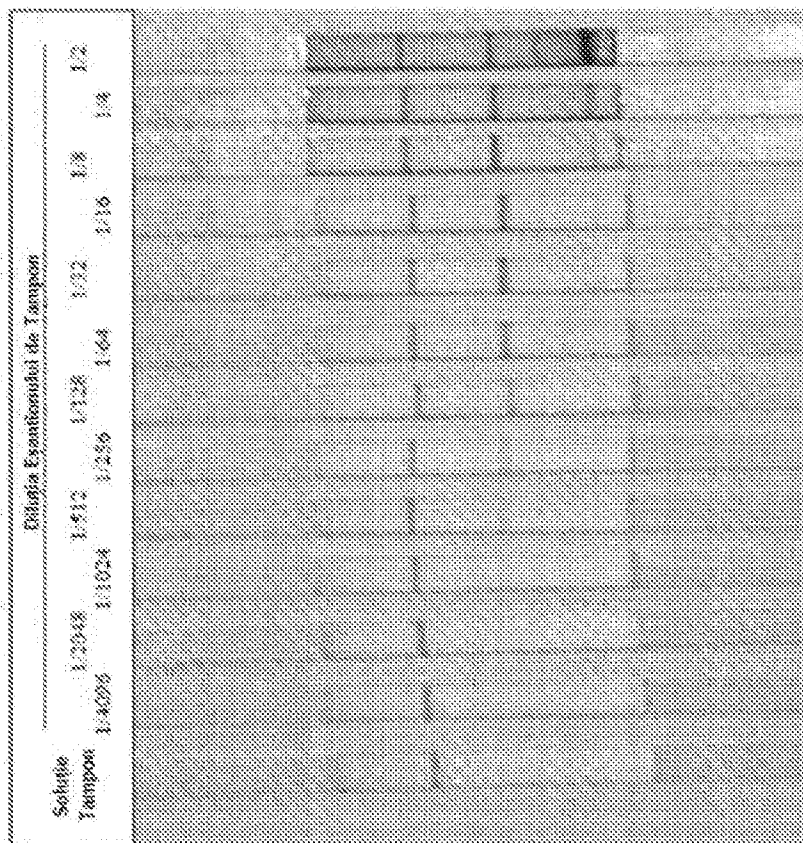


FIG. 30

Eșantion de Tampon de Nivel 8 Extras în 350 µl de Soluție Tampon de Extracție 3

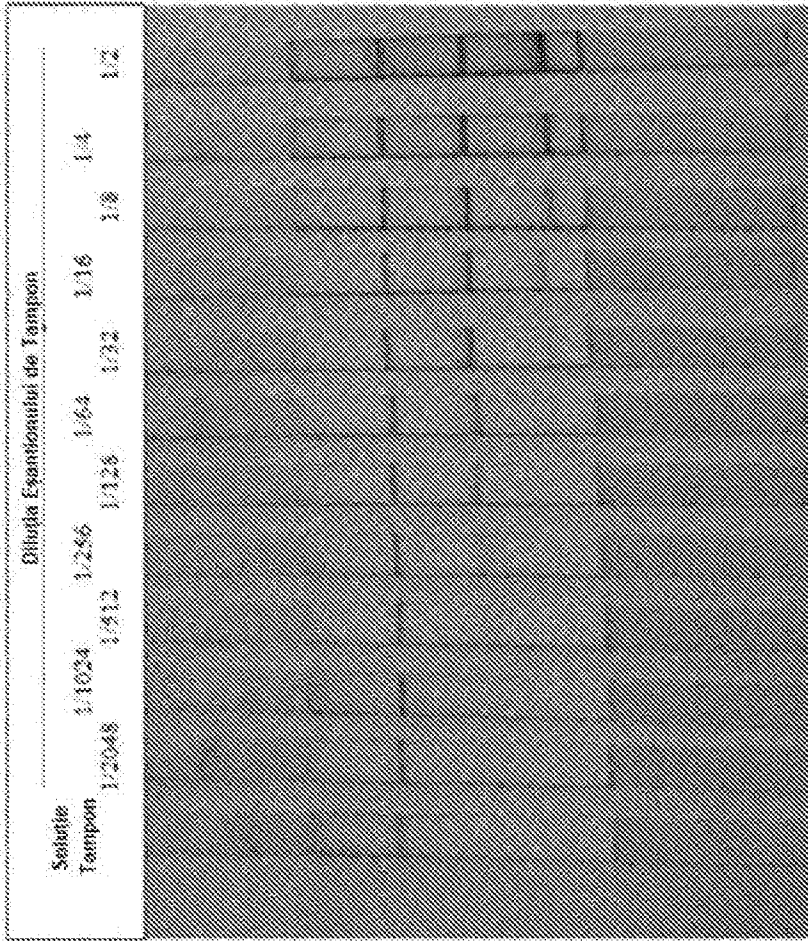


FIG. 31

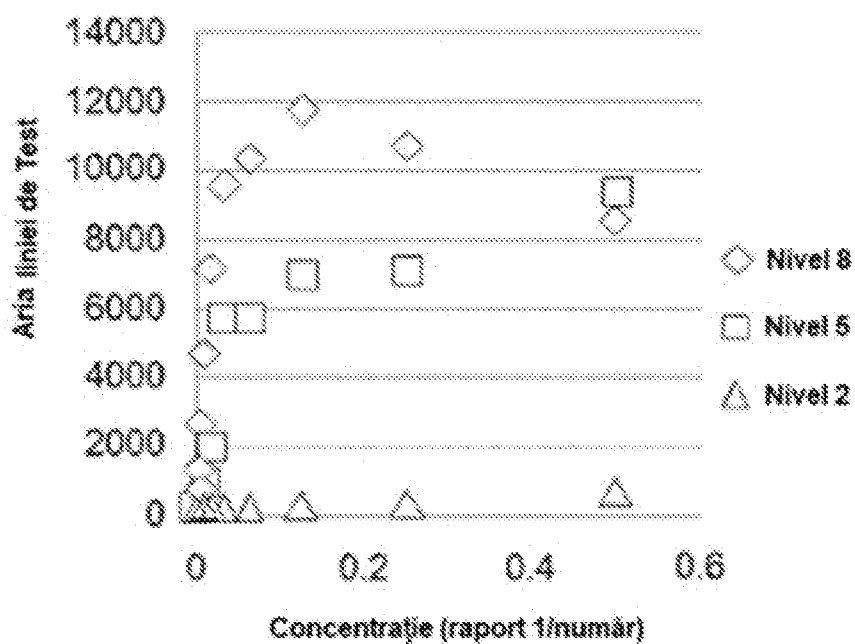


FIG. 32A

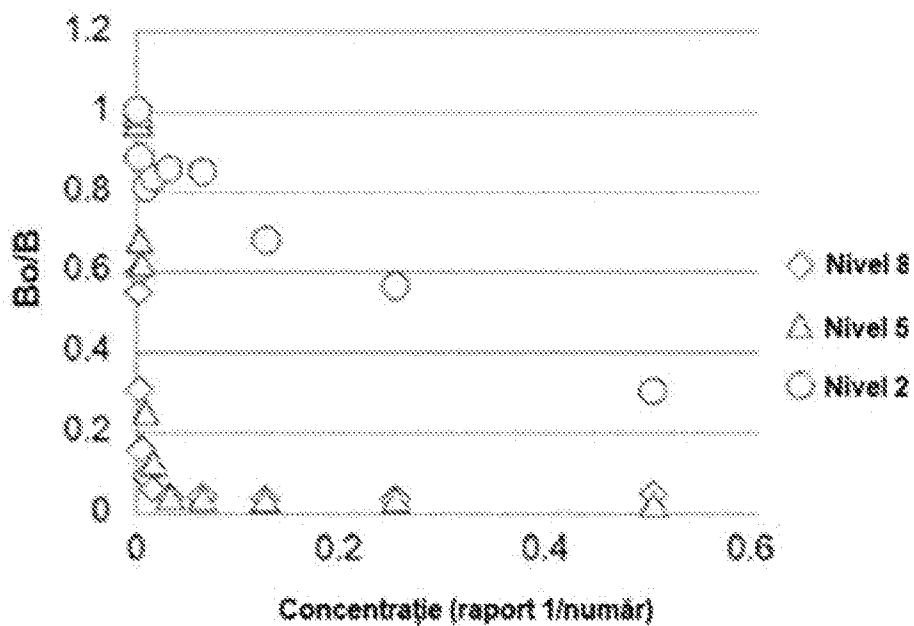


FIG. 32B

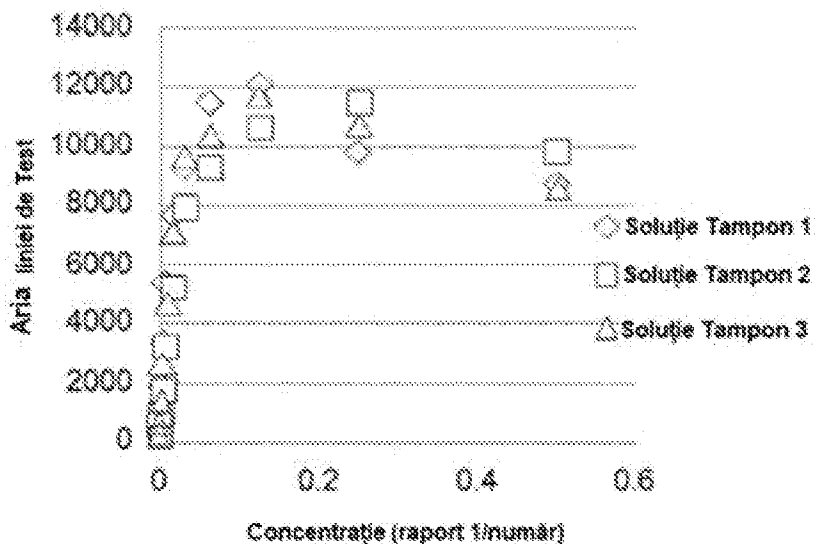


FIG. 33A

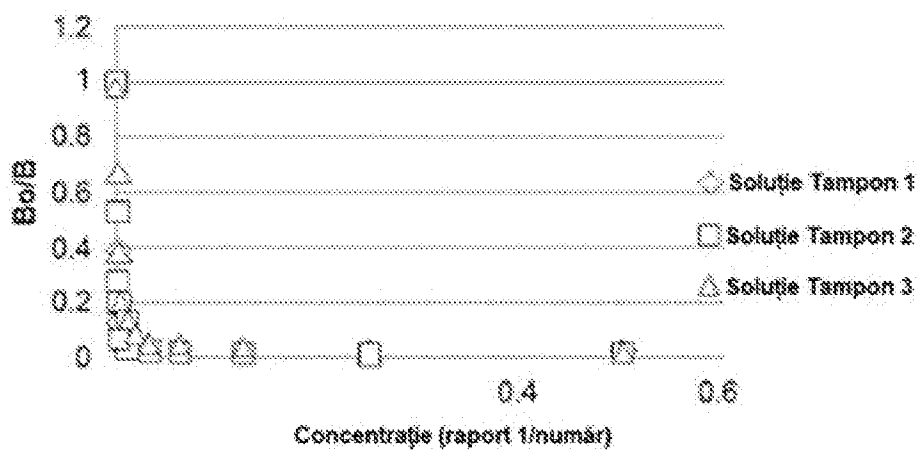


FIG. 33B

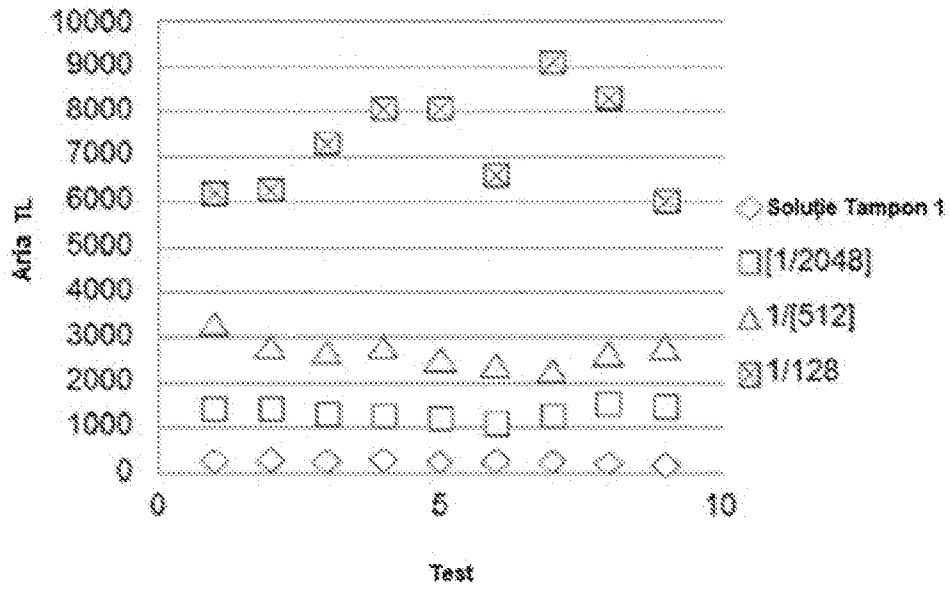


FIG. 34