

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 816 075**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/00** (2006.01)  
**G01N 21/84** (2006.01)  
**G01N 33/558** (2006.01)  
**G01N 33/76** (2006.01)  
**G01N 21/05** (2006.01)  
**G01N 21/77** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.08.2016 PCT/US2016/045891**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2017 WO17024271**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2016 E 16833969 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 3332255**

54 Título: **Pruebas dispersables en agua**

30 Prioridad:

**06.08.2015 US 201562202003 P**  
**21.08.2015 US 201562208217 P**  
**15.07.2016 US 201662362813 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**31.03.2021**

73 Titular/es:

**LIA DIAGNOSTICS, INC. (100.0%)**  
**737 Bainbridge Street**  
**Philadelphia, Pennsylvania 19147, US**

72 Inventor/es:

**EDWARDS, BETHANY;**  
**COUTURIER, ANNA y**  
**KUMAR, KOSHA**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 816 075 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Pruebas dispersables en agua

**5 Campo**

La presente divulgación versa sobre métodos, dispositivos, métodos de fabricación y kits de pruebas diagnósticas dispersables o solubles en agua.

**10 Antecedentes**

El campo de las pruebas diagnósticas rápidas se ha desarrollado para permitir la detección de analitos en diversos tipos de muestras. El uso de anticuerpos policlonales fue seguido por el uso de anticuerpos monoclonales para generar pruebas con gran especificidad para varios analitos, incluyendo hormonas, células, fármacos y sus metabolitos, así como los antígenos de los agentes infecciosos. La señal visible generada por reacciones catalizadas por enzimas o por la acumulación de una señal visible al nivel de una línea de prueba también ha dado lugar al rápido desarrollo de resultados sumamente sensibles. Muchas de las pruebas rápidas basadas en inmunoensayos incluyen una carcasa sólida que encierra una tira reactiva.

Los dispositivos existentes normalmente comprenden al menos dos partes: una estructura rígida para servir como soporte para el dispositivo, y una tira reactiva que lleva a cabo la propia prueba. Los diagnósticos basados en la orina suelen caer en las categorías de inserto en una corriente (el dispositivo se mantiene en un flujo de fluido), inmersión (el dispositivo se mantiene en una muestra de fluido estacionaria), y casete (se usa un cuentagotas para añadir la muestra de fluido), o prueba descendente. Tales dispositivos usan estructuras de cuerpo rígido, un método impreciso de recogida de muestras (que a veces requiere el recuento por parte del usuario) y una lectura abstracta singular por tira reactiva (en dispositivos no electrónicos). Las composiciones de los dispositivos actuales pueden incluir materiales tales como plásticos, ceras, capas de polímeros, nitrocelulosa y capas tejidas (por ejemplo, tiras u otras matrices) que no son biodegradables y deben ser desechados como basura. Además, cada componente de las tiras reactivas puede estar fabricado por separado y, posteriormente, ser montado usando un procesamiento por lotos, lo cual aumenta el tiempo de transporte, el tiempo de fabricación, los costes de equipos y los costes de mano de obra.

Dado que estos dispositivos de diagnóstico se usan a menudo para obtener resultados de pruebas sensibles, la discreción es normalmente una prioridad importante para el ensayo. Por ejemplo, la discreción en el momento de la eliminación puede ser particularmente importante cuando no se desee el hallazgo de un dispositivo usado.

Las soluciones presentadas en el presente documento abordan estas y otras necesidades de la técnica.

El documento US 2008/286879 A1 da a conocer un dispositivo de pruebas para la detección y la indicación visual de un analito específico en una muestra líquida, tal como un fluido corporal; el dispositivo de prueba puede estar diseñado para comprobar la presencia de HCG para una prueba de embarazo casera conveniente e higiénica y puede estar fabricado completamente de materiales biodegradables adecuados para su descarga en un sistema séptico o de alcantarillado.

El documento US 6 403 298 B1 da a conocer un método y un aparato para pruebas de orina realizadas por el propio interesado.

El documento JP H06-201690 A da a conocer un dispositivo de muestras de fluidos corporales.

LIA-IPD: Integrated Product Design (<https://ipd.me.upenn.edu/portfolio/lia/>) da a conocer un programa de diseño integrado de productos que tiene como objetivo el desarrollo de una prueba de embarazo que es fácil de usar, simple de interpretar y desechable en un inodoro.

**Sumario**

Se proporciona un dispositivo de diagnóstico según la presente Reivindicación 1. A menudo, la tira reactiva comprende una zona de prueba y está en comunicación de fluido con una zona de muestra y una zona absorbente, estando la zona de muestra y la zona absorbente compuestas de un material dispersable en agua. El material dispersable en agua es un material matricial dispersable en agua; más específicamente, un material no tejido de banda. La tira reactiva está encerrada dentro del soporte. El soporte está tratado con un revestimiento hidrófobo.

En realizaciones frecuentes, el soporte comprende una abertura o una ventana adyacentes a la zona de muestra o a la zona de prueba. A menudo, la ventana está situada adyacente a la zona de prueba y comprende un material dispersable o soluble pero ópticamente transparente, tal como gelatina.

En realizaciones frecuentes, el soporte comprende una o más hendiduras o uno o más agujeros en el mismo, estando configurado agujero o hendidura para facilitar la dispersión del material matricial en el agua. Además, el soporte a

menudo comprende una porción en relieve. También es un aspecto frecuente del soporte una porción de entrada de aire o elevada para la entrada de aire. También se puede proporcionar un relieve en la zona de muestra, en la tira reactiva, y/o en la zona absorbente.

- 5 La zona de prueba a menudo comprende una línea de prueba y una línea de control en el material matricial, comprendiendo cada línea un anticuerpo. El reactivo de anticuerpo, en realizaciones incluidas a menudo, comprende un azúcar y un anticuerpo depositados de forma liberable sobre la tira reactiva, siendo el anticuerpo específico para un analito. El azúcar a menudo comprende trehalosa y sacarosa.
- 10 En realizaciones particularmente frecuentes, el dispositivo o tira reactiva (incluyendo aspectos relevantes del mismo) está configurado para detectar un analito que comprende gonadotropina coriónica humana (hCG).

También se proporciona en la presente memoria un dispositivo de diagnóstico que comprende una tira reactiva situada en contacto con un soporte de gelatina o colágeno, dispersándose o disolviéndose en agua la tira reactiva y el soporte.

- 15 La tira reactiva comprende a menudo un canal de diagnóstico situado en el soporte. El canal de diagnóstico está a menudo recubierto con un material matricial hidrófobo dispersable en agua. Y lo más frecuente es que el material matricial hidrófobo dispersable en agua sea temporalmente hidrófobo en presencia de una muestra líquida. Este material matricial hidrófobo dispersable en agua, en las realizaciones más comúnmente incluidas, es tratado con una solución hidrófoba. La propia tira reactiva comprende un material matricial dispersable en agua, y el dispositivo a
- 20 menudo comprende, además, una zona de muestra o zona absorbente en comunicación de fluido con el canal de diagnóstico. La tira reactiva incluye a menudo una zona de prueba que comprende una línea de prueba o una línea de control sobre el material matricial, comprendiendo cada línea un anticuerpo. En realizaciones particularmente frecuentes, el dispositivo o tira reactiva (incluyendo aspectos relevantes del mismo) está configurado para detectar un analito que comprende gonadotropina coriónica humana (hCG).

- 25 En ciertas realizaciones, se proporciona un dispositivo de diagnóstico que comprende una zona de marcador que comprende un material matricial dispersable en agua y al menos un componente adicional en comunicación de fluido con la zona de marcador seleccionado del grupo constituido por una zona receptora de la muestra, una región de prueba (también denominada "zona de prueba" en el presente documento) y una zona absorbente, en donde la zona
- 30 de marcador comprende un reactivo marcado y un agente de revestimiento dispersable o soluble en agua. Frecuentemente, el dispositivo comprende la zona de marcador, la región de prueba, y, opcionalmente, la zona receptora de la muestra y/o la zona absorbente. A menudo, si están presentes, la zona de marcador, la zona receptora de la muestra, la región de prueba y la zona absorbente comprenden un material matricial dispersable en agua. Frecuentemente, el material matricial dispersable en agua comprende un material multilaminar matricial dispersable
- 35 en agua (WDMSM; también denominado simplemente en la presente memoria material matricial o material matricial dispersable en agua). En ciertas realizaciones frecuentes, el dispositivo comprende un único material matricial contiguo dispersable en agua.

- 40 A menudo, el material matricial dispersable en agua comprende una o más vías de flujo. También a menudo, el material matricial dispersable en agua comprende dos o más vías de flujo. Frecuentemente, cada una de las dos o más vías de flujo no está en comunicación de fluido con una o más de otras de las dos o más vías de flujo. En ciertas realizaciones frecuentes, una o más zonas receptoras de la muestra están en comunicación de fluido con cada una de las dos o más vías de flujo. A menudo, una o más zonas absorbentes están en comunicación de fluido con cada una de las dos o más vías de flujo. También a menudo, cada vía de flujo comprende una zona receptora de la muestra
- 45 y/o una zona absorbente.

- 50 En ciertas realizaciones frecuentes, el agente de revestimiento comprende una resina resistente a la humedad, alcohol polivinílico (PVA), poliamida-epiclorhidrina (PAE), un alginato de propilenglicol (PGA), colágeno, gelatina, una película soluble, polietilenglicol (PEG), una silicona soluble en agua, un gel de sílice, un sol gel sin sílice, un hidrogel, una cera dispersable o soluble en agua, otro revestimiento soluble o dispersable en agua, o una combinación de dos o más de los anteriores.

- 55 A menudo, el reactivo marcado se sitúa entre el agente de revestimiento y el material matricial dispersable en agua. También a menudo, el agente de revestimiento soluble en agua se sitúa entre el reactivo marcado y el material matricial dispersable en agua. Frecuentemente, el reactivo marcado se sitúa entre una primera capa y una segunda capa del agente de revestimiento soluble en agua. En ciertas realizaciones, el agente de revestimiento soluble en agua comprende dos o más capas de agente de revestimiento soluble en agua, en donde el reactivo marcado comprende dos o más reactivos marcados, en donde cada uno de los dos o más reactivos marcados está separado de otro de los dos o más reactivos marcados por al menos una porción de una capa de una de las dos o más capas de agente de
- 60 revestimiento soluble en agua. A menudo, los dos o más reactivos marcados comprenden reactivos marcados iguales o diferentes, y las dos o más capas de agente de revestimiento soluble en agua comprenden agentes de revestimiento solubles en agua iguales o diferentes. A menudo, la primera capa es un agente de revestimiento soluble en agua diferente del de la segunda capa.

- 65 En ciertas realizaciones, el agente de revestimiento soluble en agua comprende una capa entre aproximadamente 0,25 µm-1,0 mm en grosor. Además, en ciertas realizaciones, el agente de revestimiento soluble en agua comprende

- una capa de 1,0 mm a aproximadamente 5,0 mm en grosor. Además, en ciertas realizaciones, el agente de revestimiento soluble en agua se vuelve soluble y se disuelve en menos de aproximadamente 60 segundos cuando es puesto en contacto con una muestra diana. En ciertas realizaciones adicionales, el agente de revestimiento soluble en agua se vuelve soluble y se disuelve entre aproximadamente 60 segundos y aproximadamente 10 minutos cuando es puesto en contacto con una muestra diana. A menudo, la dispersión o disolución se produce en menos de 24 horas. También a menudo, la dispersión o disolución se produce en menos de una semana o un mes después de que el dispositivo es puesto en contacto con una muestra o agua. En ciertas realizaciones, incluyendo las que incorporan una matriz basada en un revestimiento, la dispersión o disolución se produce en menos de tres a seis meses.
- 5
- 10 En ciertas realizaciones frecuentes, el agente de revestimiento soluble en agua y/o el reactivo marcado están situados en el dispositivo en un estilo de matriz de puntos y situados en puntos individuales o situados en el dispositivo en una o más líneas delgadas.
- 15 En ciertas realizaciones frecuentes, al menos una de las una o más vías de flujo es una vía de flujo no lineal. A menudo, una o más de las dos o más vías de flujo es una vía de flujo no lineal.
- 20 En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para preparar una zona de marcador dispersable en agua para un inmunoensayo que comprenden poner en contacto un material matricial dispersable en agua con un reactivo marcado y un agente de revestimiento soluble en agua. A menudo, el material matricial dispersable en agua comprende un material multilaminar matricial dispersable en agua (WDMSM). También a menudo, la zona de marcador se sitúa en un dispositivo de diagnóstico y el dispositivo de diagnóstico comprende un material matricial dispersable en agua. En realizaciones frecuentes, el material matricial dispersable en agua de la zona de marcador se sitúa en comunicación de fluido contigua no solapada con el material matricial dispersable en agua del dispositivo de diagnóstico.
- 25 A menudo, el agente de revestimiento soluble en agua en tales métodos comprende una resina resistente a la humedad, alcohol polivinílico (PVA), poliamida-epiclorhidrina (PAE), un alginato de propilenglicol (PGA), colágeno, gelatina, una película soluble, polietilenglicol (PEG), una silicona soluble en agua, un gel de sílice, un sol gel sin sílice, un hidrogel, una cera dispersable en agua, otro revestimiento soluble o dispersable en agua, o una combinación de dos o más de los anteriores. Frecuentemente, el reactivo marcado se sitúa entre el agente de revestimiento soluble en agua y el material matricial dispersable en agua. También frecuentemente, el agente de revestimiento soluble en agua se sitúa entre el reactivo marcado y el material matricial dispersable en agua. A menudo, el reactivo marcado se sitúa entre una primera capa y una segunda capa del agente de revestimiento soluble en agua. También a menudo, el agente de revestimiento soluble en agua comprende dos o más capas de agente de revestimiento soluble en agua, en donde el reactivo marcado comprende dos o más reactivos marcados, en donde cada uno de los dos o más reactivos marcados está separado de otro de los dos o más reactivos marcados por al menos una porción de una capa de una de las dos o más capas de agente de revestimiento soluble en agua. Frecuentemente, los dos o más reactivos marcados comprenden reactivos marcados iguales o diferentes, y las dos o más capas de agente de revestimiento soluble en agua comprenden agentes de revestimiento solubles en agua iguales o diferentes. A menudo, la primera capa es un revestimiento soluble en agua diferente del de la segunda capa.
- 30
- 35
- 40 En ciertos métodos, el revestimiento soluble en agua comprende una capa entre aproximadamente 0,25  $\mu\text{m}$ -1,0 mm en grosor. El revestimiento soluble en agua también puede comprender una capa entre aproximadamente 1,0 mm-5,0 mm en grosor. A menudo, el revestimiento soluble en agua se vuelve soluble y se disuelve en menos de aproximadamente 60 segundos cuando es puesto en contacto con una muestra diana. También a menudo, el agente de revestimiento soluble en agua se vuelve soluble y se disuelve entre aproximadamente 60 segundos y aproximadamente 10 minutos cuando es puesto en contacto con una muestra diana. A menudo, la dispersión o disolución se produce en menos de 24 horas. También a menudo, la dispersión o disolución se produce en menos de una semana o un mes después de que se ejecuta el método. En ciertas realizaciones, incluyendo las que incorporan una matriz basada en un revestimiento, la dispersión o disolución se produce en menos de tres a seis meses.
- 45
- 50 En ciertas realizaciones, el revestimiento soluble en agua y/o el reactivo marcado están situados en el dispositivo en un estilo de matriz de puntos y situados en puntos individuales o situados en el dispositivo en una o más líneas delgadas.
- 55 En ciertas realizaciones frecuentes, se proporciona un kit que comprende un dispositivo descrito en la presente memoria y un material de embalaje o instrucciones. A menudo, el kit comprende, además, un desecante. En ciertas realizaciones, el desecante es un revestimiento soluble o dispersable. A menudo, el material de embalaje comprende un entorno libre de oxígeno. Frecuentemente, a menudo el material de embalaje comprende un material dispersable en agua. También frecuentemente, el material de embalaje comprende un material biodegradable.
- 60 En una realización, un método para formar un dispositivo de diagnóstico de flujo axial puede incluir la distribución de al menos un reactivo sobre, encima y/o dentro de una matriz, siendo la matriz al menos una soluble en agua o dispersable en agua después del uso del dispositivo de diagnóstico de flujo axial.
- 65 Un método para la formación de un dispositivo de diagnóstico de flujo axial puede incluir, por ejemplo, la provisión de una banda que comprende al menos una capa matricial, la distribución de al menos un reactivo sobre, encima y/o

dentro de la banda, y la segmentación de la banda en múltiples secciones matriciales individuales, siendo la matriz al menos una soluble en agua o dispersable en agua después del uso del dispositivo de diagnóstico de flujo axial. A menudo, el método comprende la formación de al menos un canal de reactivo sobre, encima o dentro de la matriz; y la distribución del al menos un reactivo en el al menos un canal de reactivo. En realizaciones frecuentes, el método  
 5 comprende la formación del al menos un canal de reactivo usando al menos un método seleccionado del grupo que comprende la estampación de la matriz en relieve, la impresión mediante chorro de tinta de una capa sobre la matriz, el corte de la matriz mediante láser, la laminación de una primera capa matricial con un patrón que tiene una o más aberturas de canal en la misma sobre una segunda capa matricial, y la estampación de la matriz. A menudo, se forma una almohadilla de recogida a partir de la matriz, comprendiendo la almohadilla de recogida múltiples conductos de derivación de fluido configurados para dirigir un fluido hacia el al menos un canal de reactivo.  
 10

Tales métodos comprenden a menudo una etapa o un proceso (incluyendo el equipo relacionado con ello) de estampar en relieve los múltiples conductos de derivación de fluido en la almohadilla de recogida. La matriz a menudo tiene una primera área superficial y el método comprende, además, la formación de una almohadilla de recogida a partir de la matriz, comprendiendo la almohadilla de recogida una segunda área superficial que está más elevada que la primera área superficial. En ciertas realizaciones, el método comprende la estampación de la matriz en relieve para formar la almohadilla de recogida.  
 15

A menudo, los métodos de fabricación pueden incluir una etapa de curado para curar los reactivos sobre la matriz; por ejemplo, usando una fuente de calor. Los métodos de fabricación también pueden emplear el corte de la matriz para segmentar la matriz en múltiples secciones matriciales individuales. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden la laminación conjunta de una primera capa matricial y de una segunda capa matricial para formar la matriz.  
 20

En ciertas realizaciones, se sitúa al menos un reactivo en y/o sobre la primera capa matricial; acto seguido, se lleva a cabo la laminación, interponiendo con ello el al menos un reactivo entre la primera capa matricial y la segunda capa matricial.  
 25

También en ciertas realizaciones, se proporciona un método para formar un dispositivo de diagnóstico de flujo axial, que comprende: distribuir al menos un reactivo sobre, encima y/o dentro de una banda que comprende al menos una capa matricial; y segmentar la banda en múltiples secciones matriciales individuales, siendo la matriz al menos soluble en agua o dispersable en agua después del uso del dispositivo de diagnóstico de flujo axial. En ciertas realizaciones, el método puede comprender la estampación de una primera porción de la banda en relieve para formar al menos un canal de reactivo; y la distribución del al menos un reactivo en el al menos un canal de reactivo. En ciertas realizaciones, el método puede comprender la estampación de una segunda porción de la banda en relieve para formar múltiples conductos de derivación de fluido configurados para dirigir un fluido hacia el al menos un canal de reactivo. En ciertas realizaciones, el método puede comprender colocar el al menos un reactivo en una primera capa matricial; y laminar la primera capa matricial sobre al menos una segunda capa matricial para formar la banda, estando interpuesto el al menos un reactivo entre la primera capa matricial y la segunda capa matricial. En ciertas realizaciones, el método puede comprender la eliminación de múltiples capas matriciales, incluyendo al menos una capa matricial, de múltiples bobinas; y laminar conjuntamente las múltiples capas matriciales para formar la banda.  
 30  
 35  
 40

El dispositivo o matriz a menudo se empaqueta después de su fabricación; por ejemplo, poniendo la matriz y el al menos un reactivo en una bolsita, siendo la bolsita soluble en agua y/o dispersable en agua. A menudo, se coloca y/o se sella un desecante dentro de la bolsita. En la presente memoria se detallan específicamente métodos adicionales de fabricación. El proceso de fabricación puede incluir imprimir o colocar marcas sobre la matriz, comprendiendo las marcas al menos uno de texto y gráficos.  
 45

Como se ha indicado, el dispositivo o tira reactiva (incluyendo aspectos relevantes del mismo) está configurado a menudo para detectar un analito que comprende la gonadotropina coriónica humana (hCG).  
 50

Estas y otras realizaciones, características y ventajas se harán evidentes para los expertos en la materia cuando se tomen con referencia a la descripción más detallada de diversas realizaciones a modo de ejemplo de la presente divulgación junto con los dibujos adjuntos.  
 55

### **Breve descripción de los dibujos**

El experto en la materia entenderá que los dibujos, descritos a continuación, son únicamente a efectos de ilustración. Los dibujos están incorporados en esta memoria descriptiva y constituyen parte de la misma.

60 La Figura 1 es una representación en perspectiva de un dispositivo de prueba diagnóstica formado según una realización de las presentes enseñanzas.

La Figura 2 es un diagrama de flujo que representa una realización de un método para la formación de un dispositivo de prueba diagnóstica según una realización de las presentes enseñanzas.

65 La Figura 3A es una representación esquemática de una línea de fabricación continua y del equipo asociado para fabricar un dispositivo de prueba diagnóstica.

La Figura 3B representa un diagrama de flujo de proceso relacionado con la fabricación del dispositivo.

La Figura 4A y la Figura 4B representan ciertas disposiciones de materiales del dispositivo y de reactivos.

La Figura 5A y la Figura 5B representan ciertas otras disposiciones de materiales del dispositivo y de reactivos.

La Figura 6A y la Figura 6B representan ciertas otras disposiciones de materiales del dispositivo y de revestimientos.

5 La Figura 7 representa una disposición de una matriz de puntos de un reactivo sobre un material matricial.

La Figura 8 representa una vista de perfil del material matricial de un dispositivo, que tiene un material de revestimiento y un reactivo integrados dentro y encima del material matricial.

La Figura 9 es una vista en planta que representa un dispositivo de prueba diagnóstica formado según una realización de las presentes enseñanzas.

10 La Figura 10 representa una realización que tiene material matricial de un solo tipo, y estratificado, como cada zona o componente de un dispositivo.

La Figura 11 representa un diagrama de flujo de proceso relacionado con la vida útil.

La Figura 12 representa un dibujo lineal de un dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

La Figura 13A representa un dibujo lineal de otro dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

15 La Figura 13B representa un dibujo lineal de una realización de una zona receptora de la muestra de un dispositivo a modo de ejemplo.

La Figura 13C representa un dibujo lineal de una realización de una zona absorbente de un dispositivo a modo de ejemplo.

La Figura 14A representa un dibujo lineal de otro dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

20 La Figura 14B representa un dibujo lineal de una realización de una zona combinada receptora de la muestra y de la tira reactiva de un dispositivo a modo de ejemplo.

La Figura 14C representa un dibujo lineal de una realización de una zona absorbente de un dispositivo a modo de ejemplo.

La Figura 15A representa un dibujo lineal de otro dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

25 La Figura 15B representa un dibujo lineal de una realización de una zona combinada receptora de la muestra, de la tira reactiva y de la zona absorbente de un dispositivo a modo de ejemplo.

La Figura 16A representa un dibujo lineal de otro dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

La Figura 16B representa un dibujo lineal de una realización de una zona receptora de la muestra, de la tira reactiva y de la zona absorbente de un dispositivo a modo de ejemplo.

30 La Figura 17A representa un dibujo lineal de otro dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

La Figura 17B representa un dibujo lineal del dispositivo de la Figura 17A, que incluye la porción superior de la carcasa.

La Figura 17C representa un dibujo lineal de otro dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

La Figura 18 representa un dibujo lineal de otro dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

35 La Figura 19A representa un dibujo lineal de una realización de una porción de un dispositivo a modo de ejemplo, que incluye sus diversos aspectos.

La Figura 19B representa una porción ampliada del dispositivo de la Figura 19A.

#### 40 Descripción detallada de las diversas realizaciones

En aras de la claridad de la divulgación, y no a título de limitación, la descripción detallada de las diversas realizaciones se divide en ciertas subsecciones que siguen.

45 A no ser que se defina algo distinto, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente una persona con un dominio normal de la técnica a la que pertenece esta invención.

Según se usa en la presente memoria, “un” o “una” significa “al menos uno/a” o “uno/a o más”.

50 Según se usa en la presente memoria, la expresión “y/o” puede significar “y”, puede significar “o”, puede significar “o excluyente”, puede significar “uno/a”, puede significar “algunos/algunas, pero no todos/todas”, puede significar “ninguno/ninguna”, y/o puede significar “ambos/ambas”.

55 Según se usan en la presente memoria, los términos “detectar”, “detectando” o “detección” pueden describir ya sea el acto general de descubrir o discernir o la observación específica de una molécula o una composición, ya sea directa o indirectamente.

Según se usa en la presente memoria, “antígeno” se refiere a cualquier compuesto capaz de unirse a un anticuerpo, o contra el cual puedan generarse anticuerpos.

60 Según se usa en la presente memoria, “anticuerpo” se refiere a un polipéptido sustancialmente codificado por un gen de inmunoglobulina o por genes de inmunoglobulina, o fragmentos de los mismos. Los genes reconocidos de inmunoglobulina incluyen las regiones constantes kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como una miríada de genes de regiones variables de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican ya sea como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, las cuales, a su vez, definen las clases de inmunoglobulina IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Normalmente, un anticuerpo es una

65

inmunoglobulina que tiene un área en su superficie o en una cavidad que se usen específicamente con una organización espacial y polar particular de otra molécula y que, por ello, es definida como complementaria de la misma. El anticuerpo puede ser policlonal o monoclonal. Los anticuerpos pueden incluir una inmunoglobulina completa o fragmentos de la misma. Los fragmentos de la misma pueden incluir Fab, Fv y F(ab')<sub>2</sub>, Fab' y similares. Los anticuerpos también pueden incluir anticuerpos quiméricos o un fragmento de los mismos creado por métodos recombinantes.

Según se usa en la presente memoria, "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos; es decir, los anticuerpos que comprenden la población son idénticos, salvo por posibles mutaciones que se produzcan de forma natural que estén presentes en pequeñas cantidades.

Según se usa en la presente memoria, el término "muestra" se refiere a cualquier cosa que pueda contener un analito para el cual se desea una prueba de analito. La muestra puede ser una muestra biológica, tal como un fluido biológico o un tejido biológico. Ejemplos de fluidos biológicos incluyen orina, sangre, plasma, suero, saliva, semen, heces, esputo, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, moco, líquido amniótico o similares. Los tejidos biológicos comprenden un agregado de células, habitualmente de un tipo particular, junto con su sustancia intercelular, que forman uno de los materiales estructurales de una estructura humana, animal, vegetal, bacteriana, fúngica o viral, incluyendo tejidos conectivos, epiteliales, musculares y nerviosos. Ejemplos de tejidos biológicos también incluyen órganos, tumores, nodos linfáticos, arterias y una o más células individuales.

"Muestra fluida" o "muestra líquida" se refiere a un material del que se sospecha que contiene el o los analitos de interés, material que tiene suficiente fluidez para fluir a través de un dispositivo de inmunoensayo según la presente memoria. La muestra líquida puede ser usada tal como ha sido obtenida directamente de la fuente, o tras un pretratamiento para modificar su carácter. Tales muestras pueden incluir muestras humanas, animales o artificiales. La muestra puede ser preparada en cualquier medio conveniente que no interfiera en el ensayo. Normalmente, la muestra es una solución acuosa o un fluido biológico, según se describe con mayor detalle posteriormente.

La muestra líquida puede derivarse de cualquier fuente, tal como un fluido fisiológico, incluyendo sangre, suero, plasma, saliva, esputo, líquido del cristalino, sudor, orina, leche, líquido ascítico, mucosa, líquido sinovial, líquido peritoneal, exudados transdérmicos, exudados faríngeos, lavado broncoalveolar, aspiraciones traqueales, líquido cefalorraquídeo, semen, moco cervical, secreciones vaginales o uretrales, líquido amniótico y similares. En la presente memoria, también se consideran fluidos biológicos los homogenatos líquidos de tejidos celulares, tales como, por ejemplo, raspados de pelo, piel y uñas, extractos de carne y pieles de frutas y frutos secos. El pretratamiento puede implicar la preparación de plasma a partir de sangre, la disolución de fluidos viscosos y similares. Los métodos de tratamiento pueden implicar filtración, destilación, separación, concentración, inactivación de componentes interferentes y la adición de reactivos. Además de los fluidos fisiológicos, se pueden usar otras muestras tales como agua, productos alimenticios, extractos de suelo y similares para la realización de ensayos industriales, ambientales o de producción de alimentos, así como ensayos de diagnóstico. Además, se puede usar un material sólido sospechoso de contener el analito como muestra de prueba una vez que se haya modificado para formar un medio líquido o para liberar el analito. La selección y el pretratamiento de muestras biológicas, industriales y ambientales antes de la prueba son bien conocidos en la técnica y no es preciso describirlos adicionalmente.

Según se usa en la presente memoria, la expresión "se une específicamente" se refiere a la especificidad de unión de un par específico de unión. El reconocimiento de una diana particular por parte de un anticuerpo en presencia de otras dianas potenciales es una característica de tal unión. "Miembro componente de unión" se refiere a un miembro de un par específico de unión, es decir, a dos moléculas diferentes, uniéndose una de las moléculas específicamente con la segunda molécula a través de medios químicos o físicos. Las dos moléculas están relacionadas en el sentido de que su unión mutua es tal que son capaces de distinguir a su pareja de unión de otros constituyentes del ensayo que tengan características similares. Los miembros del par componente de unión son denominados ligando y receptor (antiligando), miembro de par específico de unión (sbp) y pareja de sbp, y similares. Una molécula también puede ser un miembro de sbp para una agregación de moléculas; por ejemplo, se puede considerar que un anticuerpo generado contra un complejo inmunitario de un segundo anticuerpo y su correspondiente antígeno son un miembro de sbp para el complejo inmunitario.

Además de los miembros componentes de unión de antígeno y anticuerpo, otros componentes de unión incluyen, como ejemplos sin limitación, biotina y avidina, carbohidratos y lectinas, secuencias de nucleótidos complementarios, secuencias de péptidos complementarios, moléculas efectoras y receptoras, cofactores enzimáticos y enzimas, inhibidores enzimáticos y enzimas, una secuencia de péptidos y un anticuerpo específico para la secuencia o la proteína completa, ácidos y bases poliméricos, tinciones y aglutinantes de proteínas, péptidos y aglutinantes de proteínas específicos (por ejemplo, ribonucleasa, péptido S y proteína ribonucleasa S), metales y sus quelantes, y similares. Además, los componentes de unión pueden incluir miembros que son análogos del miembro componente de unión original; por ejemplo, un análogo de analito o un miembro componente de unión elaborado mediante técnicas recombinantes o ingeniería molecular.

Un miembro de sbp es análogo a otro miembro de sbp si ambos son capaces de unirse a otro miembro de sbp complementario idéntico. Dicho miembro de sbp puede ser, por ejemplo, un ligando o un receptor que ha sido modificado mediante la sustitución de al menos un átomo de hidrógeno por un grupo para proporcionar, por ejemplo,

un ligando marcado o un receptor marcado. Los miembros de sbp pueden ser análogos o complementarios al analito o a un miembro de sbp que es complementario del analito.

5 Si el componente de unión es un inmunorreactivo, puede ser, por ejemplo, un anticuerpo, un antígeno, un hapteno o un complejo de los mismos. Si se usa un anticuerpo, puede ser un anticuerpo monoclonal o policlonal, una proteína o anticuerpo recombinante, un anticuerpo quimérico, una o más mezclas o uno o más fragmentos de los mismos, así como una mezcla de un anticuerpo y otros miembros componentes de unión. Los expertos en la materia conocen los detalles de la preparación de tales anticuerpos y su idoneidad para su uso como miembros de unión específicos.

10 "Analito" se refiere al compuesto o a la composición que ha de detectarse o medirse y que tiene al menos un epítipo o sitio de unión. El analito puede ser cualquier sustancia para la que exista un miembro de unión específico de analito de origen natural o para la que se pueda preparar un miembro de unión o anticuerpo específico al analito.

15 Los analitos incluyen, sin limitación, toxinas, compuestos orgánicos, proteínas, péptidos, microorganismos, bacterias, virus, aminoácidos, ácidos nucleicos, carbohidratos, hormonas, esteroides, vitaminas, fármacos (incluidos los administrados con fines terapéuticos, así como los administrados con fines ilícitos), contaminantes, pesticidas y metabolitos o anticuerpos de cualquiera de las sustancias anteriores. El término analito también incluye cualquier sustancia antigénica, haptenos, anticuerpos, macromoléculas y combinaciones de los mismos. Ciertos analitos contemplados específicamente incluyen  $\alpha$ -hCG,  $\beta$ -hCG, progesterona, hormona luteinizante, etc.

20 "Reactivo marcado" se refiere a una sustancia que comprende un marcador detectable unido a un miembro de unión específico. La unión puede ser una unión covalente o no covalente, pero el método de unión no es crítico para la presente invención. El marcador permite que el reactivo marcador produzca una señal detectable que está relacionada con la presencia de analito en la muestra líquida. El miembro componente de unión específico del reactivo marcador se selecciona para que se una directamente al analito o para que se una indirectamente al analito por medio de un miembro de unión específico auxiliar, que es descrito con mayor detalle a continuación. El reactivo marcado se puede incorporar en el dispositivo de prueba en un sitio aguas arriba de la zona de captura, se puede combinar con la muestra de fluido para formar una solución fluida, se puede añadir al dispositivo de prueba por separado de la muestra de prueba, o se puede ser predeposicionado o inmovilizado de forma reversible en la zona de captura. Además, el miembro de unión específico puede ser marcado antes o durante la realización del ensayo por medio de un método de unión adecuado.

35 "Marcador" se refiere a cualquier sustancia que sea capaz de producir una señal que sea detectable por medios visuales o instrumentales. A menudo, un marcador se refiere a una perla de látex, a una partícula de oro o a una nanopera de celulosa, cada una de las cuales está conjugada con un anticuerpo o una parte del mismo. Diversos marcadores adecuados para su uso en la presente invención incluyen marcadores que producen señales a través de medios químicos o físicos. Dichos marcadores pueden incluir enzimas y sustratos, cromógenos, catalizadores, compuestos fluorescentes, compuestos quimioluminiscentes y marcadores radiactivos. Otros marcadores adecuados incluyen marcadores particulados tales como partículas metálicas coloidales, como oro, partículas coloidales no metálicas como selenio o telurio, partículas tincionadas o coloreadas como un plástico teñido o un microorganismo tincionado, partículas de látex polimérico orgánico y liposomas, perlas coloreadas, microcápsulas poliméricas, sacos, eritrocitos, eritrocitos fantasmas u otras vesículas que contienen sustancias directamente visibles y similares. Normalmente, se usa un marcador visualmente detectable como componente marcador del reactivo marcador, lo que proporciona una lectura visual o instrumental directa de la presencia o la cantidad del analito en la muestra de prueba sin la necesidad de componentes adicionales que produzcan señales en los sitios de detección.

50 Generalmente, el marcador será capaz de generar una señal detectable ya sea por sí mismo, o ser detectable instrumentalmente, o ser detectable junto con uno o más componentes productores de señales adicionales, tales como un sistema productor de señales de enzima/sustrato. Se pueden formar diversos reactivos marcadores diferentes variando ya sea la marca o el miembro componente de unión específico del reactivo marcador; un experto en la materia apreciará que la elección implica la consideración del analito que ha de detectarse y de los medios de detección deseados. Como se expone a continuación, también se puede incorporar un marcador para usarlo en un sistema de control para el ensayo.

55 Por ejemplo, se puede hacer que uno o más componentes productores de señales reaccionen con el marcador para generar una señal detectable. Si el marcador es una enzima, entonces la amplificación de la señal detectable se obtiene haciendo reaccionar la enzima con uno o más sustratos o enzimas y sustratos adicionales para producir un producto de reacción detectable.

60 En un sistema alternativo de producción de señales, el marcador puede ser un compuesto fluorescente en donde no se requiere manipulación enzimática del marcador para producir la señal detectable. Las moléculas fluorescentes incluyen, por ejemplo, fluoresceína, ficobiliproteína, rodamina y sus derivados, y los análogos son adecuados para su uso como marcadores en tal sistema.

65 En la bibliografía está documentado el uso de colorantes para tincionar materiales biológicos, tales como proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos y organismos completos. Es sabido que ciertos colorantes tiñen materiales particulares

preferentemente en función de unas propiedades químicas compatibles del colorante y el ligando. Por ejemplo, azul de Coomassie y azul de metileno para proteínas, reactivo de ácido peryódico-Schiff para carbohidratos, violeta de genciana, safranina O y azul de tripano para tinciones de células enteras, bromuro de etidio y naranja de acridina para tinción de ácidos nucleicos y tinciones fluorescentes como rodamina y blanco de calcoflúor para la detección por microscopía fluorescente.

“Componente productor de señales” se refiere a cualquier sustancia capaz de reaccionar con otro reactivo de ensayo o con el analito para producir un producto de reacción o señal que indique la presencia del analito y que sea detectable por medios visuales o instrumentales. “Sistema de producción de señales”, como se usa en la presente memoria, se refiere al grupo de reactivos de ensayo que se necesitan para producir la señal o el producto de reacción deseado.

“Señal observable”, como se usa en el presente documento, se refiere a una señal producida en los dispositivos y los métodos reivindicados que es detectable mediante inspección visual. Sin limitación, el tipo de señal producida depende de los reactivos marcadores y de los marcadores usados (descritos en la presente memoria). En general, las señales observables que indican la presencia o la ausencia de un analito en una muestra pueden ser evidentes por sí mismas; por ejemplo, signos de más o menos o símbolos de forma particular, o pueden ser evidentes mediante la comparación con un panel como un panel indicador de color.

“Flujo axial”, como se usa en el presente documento, se refiere a flujo lateral, vertical o transversal a través de una matriz o material particular que comprende una o más zonas de prueba y/o de control. El tipo de flujo contemplado en un dispositivo, ensayo o método particular varía según la estructura del dispositivo. Sin entrar en consideraciones teóricas, el flujo lateral, vertical o transversal puede referirse al flujo de una muestra de fluido desde el punto de contacto del fluido en un extremo o lado de una matriz en particular (el extremo aguas arriba o proximal) a un área aguas abajo (o distal) de este contacto. El área aguas abajo puede estar en el mismo lado o en el lado opuesto de la matriz desde el punto de contacto del fluido.

Según se usan en el presente documento, los términos “aguas arriba” y “aguas abajo” se refieren a la dirección del flujo de la muestra de fluido con posterioridad al contacto de la muestra de fluido con un dispositivo representativo de la presente divulgación, en donde, en condiciones normales de funcionamiento, la dirección de flujo de la muestra de fluido discurre desde una posición aguas arriba a una posición aguas abajo. Por ejemplo, cuando la muestra de fluido entra en contacto inicialmente con la zona de recepción de la muestra, la muestra de fluido fluye a continuación aguas abajo a través de la zona de marcador, etcétera.

Según se usa en el presente documento, la frase “finalización de un ensayo” se refiere al flujo axial de la muestra líquida aplicada de la que se sospecha que contiene uno o más analitos a través de un dispositivo representativo, aguas abajo de al menos una zona de prueba y al menos una zona de control. Más comúnmente, la frase finalización del ensayo se refiere al flujo axial de la muestra líquida aplicada de la que se sospecha que contiene uno o más analitos a través de un dispositivo representativo, aguas abajo de todas las zonas de prueba y de control sobre o dentro del dispositivo.

Según se usa en el presente documento, el término “dispersable” significa que las fibras de un material son capaces de desprenderse, dando como resultado que el material se rompa en pedazos más pequeños que la hoja original. El desprendimiento es generalmente un cambio físico de dispersión o separación, en comparación con un cambio de estado, como la disolución, en donde el material se disuelve; por ejemplo, un polímero hidrosoluble que se disuelve en agua.

Según se usa en el presente documento, el término “soluble” tiene un significado convencional. En otras palabras, “soluble” se refiere a la capacidad de un material específico de disolverse en otra sustancia, como agua, una muestra líquida u otro fluido.

Según se usa en el presente documento, la frase “estructura compuesta no tejida fibrosa” se refiere a una estructura de fibras o filamentos individuales con o sin particulados que están entrelazados, pero no de una manera repetitiva identificable. En el pasado se han formado estructuras no tejidas tales como, por ejemplo, bandas no tejidas fibrosas, mediante diversos procesos conocidos por los expertos en la materia que incluyen, por ejemplo, procesos de soplado en fusión y de hilado en fusión, procesos de hilatura, procesos de cinta cardada unida, hidroenmarañado, y similares. Se contemplan métodos tradicionales para formar una banda no tejida que comprende la matriz (por ejemplo, como se describe en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 20140170402), además de otros métodos tales como, por ejemplo, electrohilado usando fibras formadas por la totalidad o una porción de fibras hidrófobas o formadas de otra manera.

Según se usa en el presente documento, “comunicación de fluido” se refiere a la disposición o colocación de un material o materiales de manera que el fluido pueda fluir a través del material (por ejemplo, material matricial) o fluir entre materiales mediante acción capilar, flujo absorbente, flujo axial o flujo no absorbente. Un material puede estar en “comunicación de fluido” con otro material independientemente de la presencia de fluido si proporciona la capacidad de permitir el flujo de fluido entre materiales cuando hay fluido presente.

Según se usa en el presente documento, “tira reactiva” se refiere a una porción de un dispositivo a modo de ejemplo que comprende una región de prueba y también opcionalmente en comunicación de fluido con una zona receptora de la muestra y/o una zona absorbente. Una tira de prueba puede comprender o estar conectada con una zona de marcador y puede comprender una o más vías de flujo. En ciertas realizaciones contempladas, una tira de prueba también puede comprender el material matricial contiguo que forma una zona receptora de la muestra y/o una zona absorbente o formar parte del mismo.

Según se usa en el presente documento, “material matricial contiguo” se refiere a una sola hoja de material matricial.

Según se usa en el presente documento, la expresión “dispersable en agua” se refiere a una estructura compuesta no tejida fibrosa que, cuando se coloca en un entorno acuoso, se descompondrá (con el tiempo) en trozos más pequeños. Una vez que la estructura se descompone y se dispersa, se puede procesar en procesos de reciclaje; por ejemplo, sistemas sépticos y de tratamiento de aguas residuales municipales. Si se desea, las estructuras no tejidas fibrosas se pueden hacer más dispersables en agua o se puede acelerar la dispersión. La cantidad real de tiempo para la dispersión puede variar y determinarse en función del perfil de uso previsto. En realizaciones frecuentes, los materiales matriciales solubles o dispersables en agua contemplados en la presente memoria se dispersan en agua y pasan las directrices de lavabilidad de INDA y EDANA.

Según se usa en el presente documento, “desechables en un inodoro” se refiere a materiales que se dispersan en agua y pasan las directrices de desechabilidad de INDA y/o EDANA, según se establece, por ejemplo, en “Guidelines for Assessing the Flushability of Disposable Nonwoven Products”, tercera edición, agosto de 2013, INDA y EDANA.

Según se usa en el presente documento, la expresión “material matricial” (que incluye material matricial no sintético, material matricial dispersable o soluble en agua, material multilaminar matricial dispersable en agua, etc.) excluye la nitrocelulosa y el material de nitrocelulosa. Lo más frecuente es que este material matricial comprenda un material matricial desechable en un inodoro, dispersable y/o soluble en agua, tal como un material no tejido de banda. También se prevé que la expresión “material matricial” se refiera al material independientemente de si ha sido tratado con un revestimiento o un laminado.

Según se usa en el presente documento, “zona receptora de la muestra” (también denominada “zona de muestra” o “almohadilla de muestra”) se refiere a una porción en la que una muestra se pone en contacto con un dispositivo contemplado en la presente memoria. Esta zona puede incluir o comprender una almohadilla de muestra que está específicamente adaptada para entrar en contacto con una muestra líquida.

Según se usa en el presente documento, “zona absorbente” (también denominada “almohadilla absorbente”) se refiere a una porción por la que pasa una muestra o en la que es absorbida después de pasar a través de una zona de prueba.

Según se usa en el presente documento, se pretende que “soporte” abarque el término “carcasa” como una forma de soporte contemplado específicamente o una manera de referirse a la misma.

Otras características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción y de los dibujos referenciados. Las presentes innovaciones a menudo se describen con más detalle mediante ejemplos. Los ejemplos se proporcionan únicamente para ilustrar las innovaciones con referencia a realizaciones específicas. Los dibujos, que no están necesariamente a escala, representan realizaciones seleccionadas y no pretenden limitar el alcance de la presente divulgación. Estas ejemplificaciones, si bien ilustran ciertos aspectos específicos de las innovaciones, no describen las limitaciones ni circunscriben el alcance de las innovaciones divulgadas. La descripción detallada ilustra a título de ejemplo y no pretende limitar el alcance de la presente divulgación.

La presente divulgación contempla el uso de materiales matriciales dispersables o solubles en agua que tienen prestaciones de flujo axial.

Los materiales matriciales dispersables o solubles en agua contemplados en la presente memoria proporcionan, por ejemplo, un proceso de fabricación y un protocolo de uso sin costuras y ambientalmente sostenible. En particular, en realizaciones frecuentes, se utiliza un material matricial dispersable o soluble en agua para constituir múltiples componentes/aspectos de los dispositivos contemplados, que constituyen toda la vía de flujo del dispositivo, o que constituyen todo el dispositivo aparte de los reactivos. Los dispositivos tradicionales de ensayo de flujo lateral normalmente utilizan nitrocelulosa, mylar, cubierta laminada, papel de soporte, desecante, almohadilla de conjugado, carcasa o casete de tiras, zona absorbente, área de recogida de muestras, zona receptora de la muestra, conjugado de detección, líneas de reactivo de prueba y/o de control. Las realizaciones proporcionadas en la presente memoria utilizan un material matricial dispersable o soluble en agua para uno o más, o dos o más, de estos componentes. En ciertas realizaciones, toda la vía de flujo del dispositivo comprende un único material matricial dispersable o soluble en agua, de modo que el flujo de muestra, del reactivo y del analito se produce dentro de una única matriz contigua o en un único tipo de matriz.

Un material a modo de ejemplo contemplado en el presente documento como matriz dispersable en agua es un

material de tela no tejida denominado HYDRASPUN® (Suominen, Helsinki, Finlandia). Sin entrar en consideraciones teóricas de funcionamiento, las características de este material que se utilizan en los métodos y los dispositivos contemplados en la presente memoria son una mayor resistencia a la dispersión en agua. En otras palabras, este material es y puede caracterizarse como absorbente. Tales materiales matriciales dispersables o solubles en agua se denominan a menudo en el presente documento materiales multilaminares matriciales dispersables en agua ("WDMSM"). En ciertas realizaciones, el material de tela no tejida comprende un contenido de agua de menos de aproximadamente el 10 % en peso. En ciertas realizaciones, el material matricial dispersable o soluble en agua comprende un material seco de tres capas que tiene una capa interna de, por ejemplo, fibras de pasta de celulosa, una capa superior de dichos filamentos continuos de un polímero soluble en agua o dispersable en agua y una capa inferior de dichos filamentos continuos de un polímero soluble en agua o dispersable en agua. Se contemplan y describen otros materiales matriciales dispersables o solubles en agua, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n<sup>os</sup> 4.309.469, 4.419.403, 5.952.251 y/o 8.668.808. SOFTFLUSH® (Jacob Holm & Sons AG) y NBOND® (Hangzhou Nbond Nonwoven Co., Ltd. Corp.) son ejemplos adicionales de materiales WDMSM. En determinadas realizaciones, un WDMSM se refiere a materiales de revestimiento en capas o multilaminares, y particularmente a un revestimiento o revestimientos en capas que definen uno o más canales microfluidicos.

A continuación, se exponen propiedades de ciertos materiales matriciales dispersables o solubles en agua contemplados. Los materiales se prepararon antes de la introducción en el agua/la muestra con un reactivo seco de tinción visible.

	WDMSM	Celulosa gruesa	Hoja de prueba
Absorbabilidad general	Rápida	Lenta	Rápida
Reducción de la velocidad de absorción	Sí	Sí	Sí
Tinción seca	Sí - con antelación	Algo	Sí
Velocidad del flujo de tinción	Rápida	Muy lenta	Lenta
Flujo uniforme de tinción	Sí	No	No

El material WDMSM proporcionó resultados óptimos para permitir que las soluciones fluyeran de una manera sistemática o previsible. La tinción se secó previamente sobre los materiales y fue extraída a través del material WDMSM de manera completa y sistemática. El caudal disminuyó a través del área estrecha de la tira reactiva. Se encuentra que esta disminución en la velocidad de flujo es útil para permitir suficiente tiempo para que cualquier analito (por ejemplo, hCG) en una muestra se una al ligando, como un anticuerpo conjugado, y fluya a una región de prueba en el dispositivo. Se encontró que el WDMSM generalmente muestra una buena capacidad de absorción con volúmenes de muestra normales. La velocidad de absorción en el WDMSM se puede controlar, por ejemplo, usando una tela más gruesa o estrechando el área de la tira reactiva del dispositivo. También se encontró que un volumen de muestra más grande se tolera bien y proporciona tiempos de saturación sistemáticos. Con respecto a la celulosa, el agua (por ejemplo, agua desionizada o "DIW") atraviesa por absorción la tela de celulosa gruesa (por ejemplo, CelluFlex® disponible de Georgia-Pacific LLC, Atlanta, Georgia), pero la absorción es mucho más lenta que el WDMSM. También se encontró que el grosor de la tela reduce el movimiento de avance del DIW a través de la tira reactiva en celulosa.

Los componentes de los dispositivos tradicionales incluyen un área de recogida de muestras, una zona receptora de muestras, una almohadilla de conjugado, una membrana de nitrocelulosa, una zona absorbente, un papel de soporte, una cinta de cubierta laminada y una carcasa/casete. Se contempla aquí en ciertas realizaciones limitadas que los dispositivos tradicionales que tienen tales componentes, incluyendo varilla de nivel, dispositivos de flujo lateral y de flujo pasante, se modifiquen para sustituir los materiales del dispositivo contemplados en la presente memoria. Dispositivos de flujo lateral a modo de ejemplo incluyen los descritos en las patentes estadounidenses n<sup>os</sup> 4.818.677, 4.943.522, 5.096.837, 5.096.837, 5.118.428, 5.118.630, 5.221.616, 5.223.220, 5.225.328, 5.415.994, 5.434.057, 5.521.102, 5.536.646, 5.541.069, 5.686.315, 5.763.262, 5.766.961, 5.770.460, 5.773.234, 5.786.220, 5.804.452, 5.814.455, y 5.939.331, 6.306.642. Otros dispositivos de flujo lateral que pueden modificarse para su uso en la detección distinguible de múltiples analitos en una muestra líquida, incluidos los proporcionados en las patentes estadounidenses n<sup>os</sup> 4.703.017, 6.187.598, 6.352.862, 6.485.982, 6.534.320 y 6.767.714. Dispositivos de varilla de nivel a título de ejemplo incluyen, por ejemplo, los descritos en las patentes estadounidenses n<sup>os</sup> 4.235.601, 5.559.041, 5.712.172 y 6.790.611. Los dispositivos contemplados en la presente memoria generalmente no utilizan ni incorporan nitrocelulosa, ya que la nitrocelulosa no es dispersable en agua, biodegradable ni desechable en inodoro.

En ciertas realizaciones, se proporciona un área de recogida de muestras que a menudo está hecha del mismo material matricial no sintético (por ejemplo, material matricial dispersable o soluble en agua) que otros componentes contiguos o separados del dispositivo, a menudo incluye un diseño en relieve/con un patrón para la absorción y el flujo fluido, y opcionalmente incluye una perforación o un mecanismo para permitir su eliminación del dispositivo (por ejemplo, mediante desgarrar, corte o eliminación del cordón de tracción). En realizaciones frecuentes, la zona receptora de la muestra también comprende el mismo material matricial no sintético (por ejemplo, material matricial dispersable o soluble en agua) que otros componentes contiguos o separados del dispositivo.

En ciertas realizaciones frecuentes, la almohadilla de conjugado comprende el mismo material matricial no sintético

(por ejemplo, material matricial dispersable o soluble en agua) que otros componentes contiguos o separados del dispositivo. Opcionalmente, en ciertas realizaciones, una zona de marcador separada que comprende un componente de tipo almohadilla de conjugado está ausente de las realizaciones descritas en la presente memoria. Más bien, el reactivo (por ejemplo, conjugado) está a menudo impregnado o situado en o sobre el mismo material matricial no sintético que otros aspectos del dispositivo. Sin entrar en consideraciones teóricas específicas, el uso de los materiales contemplados en la presente memoria para el posicionamiento o la impregnación de reactivos permite tiempos de impregnación mejorados y reducidos en comparación con las almohadillas tradicionales de fibra de vidrio y poliéster. En ciertas realizaciones frecuentes, por ejemplo, el reactivo como el conjugado se coloca en una capa, porción o tapón de material colocado debajo de una capa superior del material matricial no sintético. Véase, por ejemplo, la Figura 5B.

5 A menudo, en tales realizaciones, el reactivo se coloca debajo de la superficie del dispositivo. Esto difiere significativamente de las técnicas tradicionales de inmersión o deposición por pulverización. En ciertas realizaciones frecuentes, un reactivo como un reactivo conjugado (por ejemplo, un reactivo marcado) se coloca sobre, dentro, entre o debajo de un material de revestimiento (descrito en otra parte del presente documento) que está separado del material matricial no sintético. Véanse, por ejemplo, las Figuras 4-7. A menudo, se coloca un reactivo, tal como un reactivo conjugado, en un canal (es decir, una forma de vía de flujo) formado sobre o en el dispositivo. Véanse, por ejemplo, las Figuras 5A, 6A. Puede colocarse un recubrimiento sobre el reactivo y/o entre el reactivo y la matriz en o sobre el canal.

Los dispositivos descritos en la presente memoria se proporcionan sin una membrana de nitrocelulosa tradicional que se utiliza en dispositivos conocidos, que comprende la región de prueba que tiene áreas de prueba y de control. Las membranas de nitrocelulosa son sintéticas y no dispersables ni solubles en agua. En vez de ello, los dispositivos descritos en la presente memoria utilizan un material matricial no sintético que comprende la región de prueba. Según se usa en la presente memoria, la expresión "material matricial" (material matricial no sintético, material matricial dispersable o soluble en agua, material multilaminar matricial dispersable en agua, etc.) excluye la nitrocelulosa y el material de nitrocelulosa. Lo más frecuente es que este material de matriz comprenda un material matricial dispersable o soluble en agua. Este material matricial es frecuentemente el mismo material que el que comprende la misma área de recogida y/o la misma zona receptora de la muestra, opcionalmente además del área que contiene reactivo tal como conjugado. A menudo, este material matricial es el mismo material contiguo que el que comprende el área de recogida de muestras y/o la zona receptora de la muestra, opcionalmente además del área que contiene el reactivo tal como el conjugado. También se pretende que la expresión "material matricial" incluya materiales que tienen revestimientos y, en particular, un revestimiento en capas, revestimientos de laminación o revestimientos que definen uno o más canales microfluídicos como se describe en la presente memoria.

Los dispositivos contemplados en la presente memoria proporcionan, por ejemplo, una legibilidad más fácil (por ejemplo, vista analógica, directa, etc.) en relación con los dispositivos basados en nitrocelulosa, lograda usando un área de reactivo y/o una región de prueba más grande además de la vía de flujo y diseños de canales y selecciones de materiales como se describe en la presente memoria. Los dispositivos frecuentes proporcionan un área grande para el diseño estratégico de canales (incluidas la configuración y la dirección) para facilitar la interpretación. A menudo, se proporcionan canales de vías de flujo en una ruta tortuosa o no lineal. En determinadas realizaciones, el dispositivo está provisto de canales lineales y no lineales. También a menudo, se imprimen marcas en el dispositivo para mejorar aún más la legibilidad, como la escritura de palabras o símbolos que indiquen específicamente la ubicación y el significado de cada prueba o línea o porción de control, como "embarazada", "positivo", "control", "dispositivo trabajando", etc. Cuando el material matricial es WDMSM, por ejemplo, este material es o se vuelve algo o parcialmente transparente cuando se humedece, lo que permite una fácil visibilidad de los resultados de las pruebas, como los representados por cambios cromatográficos. A menudo, las líneas tradicionales de prueba o de control se reconfiguran en los presentes dispositivos para proporcionar representaciones, palabras o diseños pictográficos para al menos una de las representaciones de resultados de prueba o de control.

En lugar de integrar una zona absorbente separada para recoger la muestra a medida que pasa a través de la región de prueba, los presentes dispositivos utilizan con mayor frecuencia una extensión del material matricial no sintético que comprende la región de prueba (entre otras regiones del dispositivo o en todo el dispositivo) como zona absorbente.

Los dispositivos de la presente divulgación también eliminan a menudo la necesidad de un papel de soporte de plástico usada tradicionalmente en las tiras reactivas. Más bien, para proporcionar rigidez y/o una barrera de fluidos al dispositivo, se usa el mismo material matricial no sintético usado en otros aspectos o componentes. A menudo, como material de soporte se utiliza un material matricial no sintético que es dispersable o soluble en agua, que a menudo se trata con una solución hidrófoba. En realizaciones frecuentes, el material matricial no sintético utilizado como soporte se recubre, por ejemplo, con un material o agente con humectabilidad limitada, lenta o retardada. A menudo, el material matricial no sintético como soporte es un material con humectabilidad limitada, lenta o retardada. También se usa con frecuencia un material segundo u otro dispersable o soluble en agua, por ejemplo, de mayor rigidez frente al material matricial dispersable o soluble en agua. En ciertas realizaciones, el dispositivo comprende dos o más materiales diferentes dispersables o solubles en agua. En ciertas realizaciones, el dispositivo comprende tres o más materiales diferentes dispersables o solubles en agua. En ciertas realizaciones, el dispositivo comprende dos de los materiales matriciales dispersables o solubles en agua iguales o similares y un segundo material dispersable o soluble en agua (por ejemplo, diferente) intercalado entre los dos materiales matriciales dispersables o solubles en agua

iguales o similares. En tales realizaciones, el dispositivo está adaptado para proporcionar ensayos iguales o diferentes en cada uno de los dos materiales matriciales dispersables o solubles en agua iguales o similares. Además, en tales realizaciones, cada matriz dispersable o soluble en agua igual o similar define una vía individual de flujo. Lo más frecuente es que cuando el fluido entre en una de las dos vías de flujo individuales, o alcance una ubicación predeterminada en el dispositivo, no pase a la otra de las dos vías de flujo individuales.

Los dispositivos de la presente divulgación también eliminan a menudo la necesidad de un laminado o cinta de cubierta o polímero tradicionalmente usado en las tiras reactivas, por ejemplo, por sustitución de un revestimiento hidrosoluble y/o dispersable o soluble en agua, o en algunos casos, eliminando la necesidad de tal cinta de cubierta.

Los dispositivos de la presente divulgación también eliminan o prescinden a menudo de la necesidad o el deseo de una carcasa o casete de plástico no desechable. De hecho, la presencia o el uso de materiales no desechables, como una carcasa de plástico, se aparta del tema general de la presente divulgación de proporcionar dispositivos dispersables o solubles en agua sensibles al medioambiente que permitan un nivel de privacidad no alcanzable hasta ahora. Las carcasas de plástico y los componentes no desechables, como las tiras reactivas que contienen nitrocelulosa, deben desecharse en contenedores de residuos sólidos. Además, las carcasas o casetes de plástico prohíben el embalaje discreto de dispositivos plenamente funcionales. En cambio, en muchas realizaciones de los dispositivos contemplados en la presente memoria, el propio dispositivo es plegable para ser almacenado en un área pequeña. El uso conlleva simplemente desplegar y poner en contacto una muestra con el dispositivo.

En una realización frecuente, la zona receptora de muestras (zona de muestras) acepta una muestra líquida que puede contener analitos de interés. En otra realización, la zona receptora de la muestra se sumerge en una muestra líquida. Una zona de marcador puede estar ubicada aguas abajo de la zona de receptora de la muestra, pero a menudo también se coloca dentro de la zona de la muestra y contiene uno o más reactivos de marcado móviles que reconocen analitos de interés o son capaces de unirse a los mismos. Además, una región de prueba está dispuesta aguas abajo de la zona de muestra y, a menudo, contiene zonas o líneas de prueba y de control. La zona o las zonas de prueba generalmente contienen un reactivo o una adaptación que permite la restricción de un analito particular de interés en cada zona de prueba. Con frecuencia, el reactivo o la adaptación incluidos en la(s) zona(s) de prueba comprende un reactivo de captura inmovilizado que se une al analito de interés. Generalmente, el reactivo de captura inmovilizado se une específicamente al analito de interés, aunque, en ocasiones, el reactivo o la adaptación que permite la restricción de un analito particular de interés en cada zona de prueba comprende otra adaptación física, química o inmunológica para restringir específicamente un analito de interés. Así, a medida que la muestra de fluido fluye a lo largo de la matriz, el analito de interés se unirá primero a un reactivo marcador movilizable en la zona del marcador y luego quedará restringido en la zona de prueba. En realizaciones ocasionales, la región de prueba comprende un material que es opaco en estado seco y transparente en estado húmedo. Así, cuando se utiliza una zona o línea de control que comprende una marca en el dispositivo, esta marca se coloca alrededor de la región de prueba, de manera que se hace visible dentro de la región de prueba cuando la región de prueba está en un estado húmedo.

A menudo, la muestra de fluido fluye a lo largo de una vía de flujo que discurre desde la zona receptora de la muestra (aguas arriba), opcionalmente la zona de marcador está separada de la zona de muestra y luego a la zona de prueba (aguas abajo). Opcionalmente, la muestra líquida puede continuar después de eso hasta una zona absorbente.

La zona receptora de la muestra comprende frecuentemente una almohadilla absorbente de aplicación, tal como una almohadilla de celulosa o HYDRASPUN®. En una realización relacionada, la zona receptora de la muestra se construye a partir de cualquier material que sea dispersable o soluble en agua, pero capaz de absorber agua.

También a menudo, la zona receptora de la muestra comprende un material dispersable o soluble en agua desde el cual la muestra líquida puede pasar a la zona de marcador. A menudo, la zona receptora de la muestra actúa como un filtro para componentes celulares, hormonas, particulados y otras sustancias determinadas que pueden estar presentes en una muestra líquida. Las funciones de la zona receptora de la muestra pueden incluir, por ejemplo: control/modificación del pH y/o control/modificación del peso específico de la muestra aplicada, eliminación o alteración de componentes de la muestra que pueden interferir o causar una unión inespecífica en el ensayo, o dirigir y controlar el flujo de la muestra a la región de prueba. El aspecto de filtrado permite que un analito de interés migre a través del dispositivo de forma controlada con pocas sustancias que interfieran, si es que hay alguna. El aspecto de filtrado, si está presente, a menudo proporciona una prueba que tiene una mayor probabilidad de éxito y precisión. En otra realización, la zona receptora de la muestra también puede incorporar reactivos útiles para evitar la reactividad cruzada con analitos no diana que pueden existir en una muestra y/o para acondicionar la muestra; dependiendo de la realización particular, estos reactivos pueden incluir bloqueadores no hCG, reactivos anti-RBC, tampones basados en Tris, EDTA, entre otros. Cuando se contempla el uso de sangre completa, con frecuencia se utilizan reactivos anti-RBC. En otra realización más, la zona receptora de la muestra puede incorporar otros reactivos tales como elementos de unión específicos auxiliares, reactivos de pretratamiento de muestras líquidas y reactivos productores de señales.

En realizaciones frecuentes, la zona receptora de la muestra comprende un miembro adicional (por ejemplo, una mecha) de aplicación de muestras. Así, en un aspecto, la zona receptora de la muestra puede comprender una almohadilla de aplicación de muestras, así como un miembro de aplicación de muestras. A menudo, el miembro de aplicación de muestras está compuesto por un material dispersable o soluble en agua que absorbe fácilmente cualquiera

de diversas muestras líquidas contempladas en el presente documento, y sigue estando robusto en forma física durante la duración o el inicio de un ensayo. El miembro de aplicación de muestras, si está presente, se coloca en contacto de flujo de fluido con una almohadilla de aplicación de muestras u otra zona de la vía de flujo del dispositivo. Este contacto de flujo de fluido puede comprender un tipo de contacto contiguo, superpuesto, colindante o entrelazado.

5 A menudo, el miembro de aplicación de muestras, si está presente, puede contener reactivos similares y comprender materiales similares a los utilizados en almohadillas a modo de ejemplo de aplicación de muestras.

En otra realización, el dispositivo de prueba está configurado para realizar un proceso de análisis inmunológico. En otra realización más, el transporte de líquido a lo largo de la matriz se basa en la acción capilar. En una realización adicional, el transporte de líquido a lo largo de la matriz se basa en un flujo lateral no absorbente, en donde todos los componentes disueltos o dispersos de la muestra líquida se transportan a velocidades sustancialmente iguales y con un flujo relativamente intacto lateralmente a través de la matriz, en oposición a la retención preferencial de uno o más componentes, como ocurriría, por ejemplo, en materiales que interactúan, química, física, iónicamente o de otro modo con uno o más componentes.

15 Un propósito de la zona de marcador es mantener los reactivos marcadores y/o los reactivos de control en un estado estable y facilitar su rápida y eficaz solubilización, movilización y reacción específica con analitos de interés potencialmente presentes en una muestra líquida.

20 En una realización, la zona de marcador comprende Hydraspun®, celulosa u otro material matricial dispersable o soluble en agua. A menudo, la zona de marcador comprende un material de soporte o revestimiento resistente a los fluidos para inhibir o ralentizar la filtración de fluido a través del mismo. Lo más frecuente es que el material de soporte o revestimiento resistente al agua sea dispersable o soluble en agua. La zona de marcador puede estar construida para proporcionar un flujo absorbente o no absorbente; frecuentemente, el tipo de flujo es similar o idéntico al proporcionado en al menos una porción de la zona receptora de la muestra.

30 En una realización frecuente, el material de la zona de marcador se trata con una solución marcada que incluye agentes bloqueadores de material y estabilizadores de marcador. A menudo se incluye una solución de azúcar u otro material de revestimiento. Los agentes bloqueadores incluyen albúmina de suero bovino (BSA), BSA metilada, caseína y leche en polvo descremada. Los agentes estabilizantes están fácilmente disponibles y son bien conocidos en la técnica y pueden usarse, por ejemplo, para estabilizar reactivos marcados. En realizaciones frecuentes, se recurre al empleo de los agentes de bloqueo y estabilización seleccionados junto con el reactivo marcado en la zona de marcado seguido del secado de los agentes de bloqueo y estabilización (por ejemplo, un proceso de secado por congelación o secado por calor con aire forzado), o junto con el mismo, para lograr un rendimiento mejorado del dispositivo.

35 La zona de marcador ("zona de marcador" pretende abarcar cualquier área del dispositivo que incluya un reactivo marcado movilizable) generalmente contiene un reactivo marcado, que a menudo comprende uno o más reactivos marcados. En muchas de las realizaciones contempladas en la presente memoria, se incorporan múltiples tipos de reactivos marcados en la zona de marcador de modo que permeen junto con una muestra líquida en contacto con el dispositivo. Estos múltiples tipos de reactivos marcados pueden ser reactivos específicos al analito o de control y pueden tener diferentes características detectables (por ejemplo, diferentes colores), de modo que un reactivo marcado se puede diferenciar de otro reactivo marcado si se utiliza en el mismo dispositivo. Dado que los reactivos marcados con frecuencia se unen a un analito específico de interés después del flujo de la muestra líquida a través de la zona de marcador, puede ser un atributo deseable la detección diferencial de reactivos marcados con diferentes especificidades (incluidos reactivos marcados de control y específicos al analito). Sin embargo, con frecuencia, la capacidad de detectar de manera diferencial los reactivos marcados que tienen diferentes especificidades en función del componente marcador por sí solo a menudo es innecesaria cuando se incorporan en el dispositivo las zonas tanto de prueba como de control, lo que permite la acumulación de reactivo marcado en las zonas designadas.

50 La zona de marcador que contiene los reactivos marcados está presente en una vía de flujo del dispositivo y también puede incluir un revestimiento. A menudo, dos o más zonas de marcador están presentes en un dispositivo y, a menudo, las dos o más zonas de marcador contienen diferentes reactivos marcados. Una zona de marcador se puede situar, por ejemplo, en una almohadilla de muestra, una zona de muestra, una tira reactiva, un canal o en una porción del dispositivo situada aguas arriba de un canal.

55 En ciertas realizaciones, se proporciona un esquema de marcado no particulado. En estos dispositivos, se utiliza un marcador que es un complejo de anticuerpo tincionado-enzima. Este complejo de anticuerpo tincionado-enzima se puede preparar polimerizando un conjugado de anticuerpo-enzima en presencia de sustrato enzimático y tensioactivo. Véase, por ejemplo, el documento WO 9401775. Generalmente, la zona de marcador contiene restos detectables que comprenden conjugado enzima-anticuerpo, reactivos marcados particulados o reactivos marcados con colorante, reactivos marcados con sol metálico, etc., o restos que pueden ser visibles o no, pero que pueden ser detectados si se acumulan en las zonas de prueba y/o de control. Los restos detectables pueden ser tinciones o polímeros teñidos que son visibles cuando están presentes en cantidad suficiente, o pueden ser, y se prefieren, particulados tales como perlas de látex teñidas o coloreadas, liposomas, coloides metálicos o no metálicos, soluciones orgánicas, inorgánicas o tincionadas, células u organismos tincionados o coloreados, nanopartículas de celulosa, glóbulos rojos y similares. Los restos detectables usados en el ensayo proporcionan el medio para la detección de la naturaleza y/o la cantidad

del resultado y, por consiguiente, su localización en las zonas de prueba puede ser una función del analito en la muestra. En general, esto se puede lograr acoplado los restos detectables a un ligando que se une específicamente a un analito de interés, o que compite con un analito de interés por los medios que permiten la restricción de un analito de interés situado en la zona o las zonas de prueba. En el primer planteamiento, los restos detectables se acoplan a una pareja específica de unión que se une al analito específicamente. Por ejemplo, si el analito es un antígeno, se puede usar un anticuerpo específico para este antígeno; también se pueden usar fragmentos inmunológicamente reactivos del anticuerpo, tales como  $F(ab')_2$ , Fab o Fab'. Estos ligandos acoplados a los restos detectables se unen entonces a un analito de interés si está presente en la muestra cuando la muestra pasa a través de la zona de marcado y es transportada a la región de prueba por el flujo de fluido a través del dispositivo. Cuando el analito marcado llega a la zona de captura, es retenido por un reactivo de restricción que es específico al analito, específico al marcador/resto detectable o específico al ligando, tal como un anticuerpo u otro miembro de un par de unión específico. En el segundo planteamiento, el conjugado o los restos particulados se acoplan a un ligando que es competitivo con el analito por un reactivo de restricción específico al analito en una zona de prueba. Tanto el analito de la muestra como el competidor unido a los restos detectables avanzan con el flujo de la muestra de fluido a la región de prueba. Luego, tanto el analito como su competidor reaccionan con el reactivo de restricción específico al analito colocado en una zona de prueba. El analito no marcado es así capaz de reducir la cantidad de restos detectables conjugados con competidor que se retienen en la zona de prueba. Esta reducción en la retención de los restos detectables se convierte en una medida del analito en la muestra.

La zona de marcado de los presentes dispositivos también incluye a menudo reactivos de tipo control. Estos reactivos de control marcados a menudo comprenden restos detectables que no quedarán retenidos en las zonas de prueba y que son transportados a la región de prueba y a la zona o las zonas de control por el flujo de la muestra líquida a través del dispositivo. En una realización frecuente, estos restos detectables se acoplan a un miembro de un par específico de unión para formar un conjugado de control que luego puede ser restringido en una zona de control separada de la región de prueba por un miembro correspondiente del par específico de unión para verificar que el flujo de líquido es el esperado. Los restos visibles usados en los reactivos de control marcados pueden ser de un color igual o diferente, o de un tipo igual o diferente, que los usados en los reactivos marcados específicos del analito de interés. Si se usan diferentes colores, se puede mejorar la facilidad de observación de los resultados. Generalmente, según se usan en el presente documento, los reactivos marcados de control también se denominan en este documento, junto con los reactivos marcados específicos al analito o los reactivos de prueba marcados como "reactivos marcados".

A diferencia de los dispositivos de flujo lateral tradicionales, la región/zona de prueba generalmente no comprende nitrocelulosa, nailon ni difluoruro de polivinilideno hidrófilo (PVDF). Como se ha indicado, la nitrocelulosa no se puede desechar debido al menos a su toxicidad, ni es dispersable en agua. Más bien, lo más frecuente es que la zona de prueba comprenda un material dispersable o soluble en agua, como WDMSM. Con frecuencia, la expresión "región de prueba" o "zona de prueba" se utiliza en este documento para hacer referencia a una región en/sobre un dispositivo que comprende al menos las líneas/áreas de prueba y de control. Para proporcionar un flujo no absorbente, estos materiales pueden tratarse con agentes tales como agentes bloqueantes que pueden bloquear las fuerzas que explican la naturaleza absorbente de las membranas absorbentes. Agentes bloqueantes adecuados incluyen albúmina de suero bovino, albúmina de suero bovino metilada, suero animal completo, caseína y leche en polvo desnatada, así como varios detergentes y polímeros; por ejemplo, PEG, PVA y similares. Preferiblemente, los sitios de interferencia en las membranas absorbentes no tratadas se bloquean completamente con el agente de bloqueo para permitir el flujo no absorbente a través los mismos. La presente divulgación contempla un dispositivo de prueba con múltiples áreas de prueba y de control.

La zona de prueba a menudo, aunque no siempre, incluye un área de control que es útil para verificar que el flujo de la muestra sea el esperado. Cada una de las áreas de control comprende una región espacialmente diferenciada que, a menudo, incluye un miembro inmovilizado de un par específico de unión que reacciona con un reactivo marcado de control. En una realización ocasional, el área de control del procedimiento contiene una muestra auténtica del analito de interés, o un fragmento del mismo. En esta realización, se puede utilizar un tipo de reactivo marcado, en donde la muestra de fluido transporta el reactivo marcado a las áreas de prueba y de control; y el reactivo marcado que no esté unido a un analito de interés se unirá entonces a la muestra auténtica del analito de interés colocada en el área de control. En otra realización, la línea de control contiene un anticuerpo que es específico para el reactivo marcado o permite de otro modo la inmovilización del mismo. En funcionamiento, un reactivo marcado se restringe en cada una de las una o más áreas de control, incluso cuando cualquiera de los analitos de interés o su totalidad está ausente de la muestra de prueba.

En una realización menos ocasional, se introduce un reactivo de control marcado en el flujo de muestra líquida, aguas arriba del área de control. Por ejemplo, el reactivo de control marcado puede ser añadido a la muestra líquida antes de que la muestra se aplique al dispositivo de ensayo. En realizaciones frecuentes, el reactivo de control marcado puede unirse de forma difusa en la zona de recepción de la muestra, pero preferiblemente se une de forma difusa en la zona de marcador.

Funciones a modo de ejemplo de los reactivos de control marcados y de sus áreas incluyen, por ejemplo, la confirmación de que el flujo de líquido de la muestra solubilizó y movilizó eficazmente los reactivos marcados

- depositados en la zona de marcador, que una cantidad suficiente de líquido se desplazó correctamente a través de la zona receptora de la muestra, de la zona de marcador y de las áreas de prueba y de control, de manera que una cantidad suficiente de analito pudiera reaccionar con el marcador específico correspondiente en la zona de marcador, migrar a la región de prueba que comprende las áreas de prueba y de control, cruzar la zona o las zonas de prueba en una cantidad tal que la acumulación del analito marcado produzca una señal visible o legible en el caso de un resultado positivo en la zona o las zonas de prueba. Además, una función adicional de las áreas de control puede ser la de actuar como zonas de referencia que permitan al usuario identificar los resultados de la prueba que se muestran como zonas legibles.
- 10 Dado que los dispositivos de la presente invención pueden incorporar una o más áreas de control, el reactivo de control marcado y sus correspondientes áreas de control se desarrollan preferiblemente de tal manera que cada área de control se haga visible con la intensidad deseada para todas las zonas de control después de que la muestra líquida sea puesta en contacto con el dispositivo, independientemente de la presencia o la ausencia de uno o más analitos de interés.
- 15 En una realización, cada una de las zonas de control de la tira reactiva capturará un único reactivo de control marcado. Con frecuencia, dicho reactivo de control marcado se depositará sobre o en la zona de etiquetado en una cantidad que exceda la capacidad de la capacidad de unión total de las zonas de control combinadas si hay presentes múltiples áreas de control. En consecuencia, la cantidad de reactivo de captura específico para el marcador de control puede depositarse en una cantidad que permita la generación de la intensidad de señal deseada en una o más áreas de control, y permita que cada una de las áreas de control restrinja una cantidad deseada de reactivo control marcado.
- 20 Al finalizar un ensayo, cada una de las áreas de control proporciona preferiblemente una señal deseada y/o prediseñada (en intensidad y forma). Ejemplos de señales prediseñadas contempladas incluyen señales de igual intensidad en cada zona de control, o siguiendo un patrón deseado de aumento, disminución u otra intensidad de señal en las áreas de control.
- 25 En otra realización, cada área de control será específica para un único reactivo de control. En esta realización, la zona de marcador puede incluir reactivos de control marcados múltiples y diferentes, igualando el número de áreas de control en el ensayo, o una variación relacionada, pudiendo cada uno de los reactivos de control marcados quedar restringido en una o más áreas de control predeterminadas y específicas. Estos reactivos de control marcados pueden proporcionar la misma señal detectable (por ejemplo, ser del mismo color) o proporcionar señales detectables distinguibles (por ejemplo, tener marcadores de diferentes colores u otros sistemas de detección) tras la acumulación en el área o las áreas de control.
- 30 En otra realización adicional, las áreas de control pueden incluir una combinación de los dos tipos de áreas de control descritas en las dos realizaciones anteriores; específicamente, una o más áreas de control pueden restringir o unir un solo tipo de reactivo de control marcado, y otras áreas de control en la misma tira de prueba serán capaces de unir uno o varios reactivos de control específicos marcados.
- 35 En una realización, el reactivo de control marcado comprende un resto detectable acoplado a un miembro de un par específico de unión. Normalmente, se escoge un reactivo de control marcado para que sea diferente del reactivo que es reconocido por los medios que son capaces de restringir un analito de interés en la zona de prueba. Además, el reactivo de control marcado generalmente no es específico para el analito. En una realización frecuente, el reactivo de control marcado es capaz de unirse al miembro correspondiente de un par específico de unión o pareja de captura de control que está inmovilizado sobre o en el área de control. Por lo tanto, el reactivo de control marcado se restringe directamente en el área de control.
- 40 En otra realización, el resto detectable que forma el componente marcador del reactivo de control marcado es el mismo resto detectable que el que se utiliza como componente marcador del reactivo de prueba marcado del analito de interés. En una realización frecuente, el componente marcador del reactivo de control marcado es diferente del componente marcador del reactivo de prueba marcado, de modo que los resultados del ensayo se determinan fácilmente. En otra realización frecuente, el marcador de control y el marcador de prueba incluyen perlas coloreadas —por ejemplo, látex coloreado—, partículas de oro o coloides, nanopérlas de celulosa. También con frecuencia, las perlas de control y de prueba comprenden colores diferentes o pueden ser cada una de un tipo diferente de marcador (por ejemplo, látex coloreado, coloides dorados, nanopérlas de celulosa). En una realización, se proporciona oro coloidal como marcador de control (por ejemplo, cualquier proteína o Ab) y se proporcionan perlas de látex como marcador de prueba (por ejemplo, hCG). Las nanopartículas de celulosa pueden sustituir a uno o ambos en ciertas realizaciones.
- 45 En una realización adicional, el reactivo de control marcado incluye estreptavidina, avidina o biotina y la pareja de captura de control incluye el correspondiente miembro de tales pares específicos de unión, que se unen fácil y específicamente entre sí. En un ejemplo, el reactivo de control marcado incluye biotina y la pareja de captura de control incluye estreptavidina. El experto apreciará que se pueden utilizar alternativamente otros miembros de pares específicos de unión, incluyendo, por ejemplo, reacciones antígeno/anticuerpo no relacionadas con el analito.
- 50 El uso de un área de control es útil, por ejemplo, porque la aparición de una señal en la zona de control indica el

momento en el que se puede leer el resultado de la prueba, incluso para un resultado negativo. Así, cuando aparece la señal esperada en la línea de control, se puede notar la presencia o la ausencia de una señal en una zona de prueba.

5 En otra realización más, se utiliza un área de control que comprende una marca que se vuelve visible en la región de prueba cuando la región de prueba está en un estado húmedo. En realizaciones ocasionales, se utilizan una o más áreas de control de este tipo. En otra realización, se puede utilizar una combinación de áreas de control del tipo que utiliza reactivos de control marcados y área de control y del tipo que muestra el área de control cuando está en un estado húmedo. Esto permite una forma sencilla de formular áreas de control al tiempo que permite utilizar un área de control basada en reactivos para asegurarse de que la resolubilización y la movilización de los reactivos en el proceso de la almohadilla de marcado han sido eficaces y de que las reacciones específicas se produjeron como se esperaba a lo largo del recorrido definido por la zona receptora de la muestra, la almohadilla de etiquetas, la tira reactiva y la zona absorbente. La presente realización incluye el uso de una o más zonas de control que se hacen visibles cuando la región de prueba está en estado húmedo para cada una de las áreas de control de un ensayo, excepto el área de control en el extremo distal o aguas abajo de la tira reactiva.

Según se ha indicado anteriormente, se proporcionan además reactivos de prueba marcados que frecuentemente comprenden un marcador de prueba acoplado a un miembro de un par específico de unión que es capaz de unirse específicamente a un analito de interés. Así, en general, se colocan múltiples reactivos de prueba marcados en la zona de marcador, cada uno de los cuales es específico para un analito de interés predeterminado.

Las zonas de prueba de la presente descripción incluyen medios que permiten la restricción de un analito de interés. Con frecuencia, las zonas de prueba de la presente descripción incluyen un ligando que es capaz de unirse específicamente a un analito de interés. Alternativamente, las zonas de prueba de la presente descripción incluyen un ligando que es capaz de unirse específicamente al reactivo marcado unido a un analito de interés. En la práctica, un reactivo de prueba marcado une un analito de interés presente en una muestra líquida después del contacto de la muestra con un dispositivo representativo y el flujo de la muestra líquida hacia y a través de la zona de marcador. Posteriormente, la muestra de fluido que contiene el analito marcado avanza a una zona de prueba y queda restringida en la zona de prueba. La acumulación de analito marcado en la zona de prueba produce una señal detectable. Con frecuencia, los dispositivos de la presente divulgación incorporan una o más zonas de prueba, cada una de las cuales es capaz de restringir diferentes analitos, si están presentes, en una muestra de fluido. Así, en realizaciones representativas, pueden restringirse dos, tres, cuatro, cinco o más analitos de interés (marcados) en una única o diferentes zonas de prueba y, por lo tanto, detectarse en un solo dispositivo.

Los presentes dispositivos comprenden opcionalmente, además, una zona absorbente que actúa para absorber el exceso de muestra después de que la muestra migra a través de la región de prueba. La zona absorbente, cuando está presente, se encuentra en contacto de flujo de fluido con la región de prueba. Este contacto de flujo de fluido puede comprender un tipo de contacto contiguo, solapado, colindante o entrelazado. En una realización ocasional, se proporciona una región de control (indicador de finalización del ensayo) en la zona absorbente para indicar cuándo se completa el ensayo. En esta realización, se utilizan reactivos especializados, tales como reactivos sensibles al pH (tales como verde de bromocresol), para indicar cuándo la muestra de fluido ha atravesado todas las zonas de prueba y control. Alternativamente, el final de la región de control del ensayo se puede efectuar aplicando una línea de tinta soluble en la región de prueba después de todas las zonas de prueba y control, y en la superficie de contacto con la zona absorbente. En general, el frente líquido que se desplaza a través de la zona de captura solubilizará la tinta y la transferirá al absorbente. El cambio de color resultante se verá en una ventana de observación sobre la zona absorbente, lo que significa el final del ensayo. Así, estos tipos de áreas de control no son específicas para un analito particular. Generalmente, la zona absorbente consistirá en un material absorbente, tal como papel de filtro, un filtro de fibra de vidrio o similares.

En una realización ocasional, la muestra líquida debe ser procesada o tratada antes de que entre en contacto con el dispositivo para asegurar la detección precisa de al menos uno de los múltiples analitos de interés. En esta realización, se puede usar un reactivo, tal como una solución de extracción, para preparar la muestra. Alternativamente, se pueden añadir reactivos al dispositivo de prueba después del contacto inicial con la muestra de fluido. Por ejemplo, la muestra se introduce en el dispositivo y, posteriormente, se añade un reactivo, como una solución de revelado, para completar el ensayo.

Los presentes dispositivos abordan los problemas contrapuestos del tiempo rápido hasta la respuesta de la muestra, la alta sensibilidad del analito y la alta precisión de los resultados. Como parte de la solución de estos problemas, se han desarrollado diversas innovaciones descritas aquí. Además, la elección de los reactivos y las concentraciones de los reactivos pueden optimizarse para satisfacer uno o más de estos problemas contrapuestos. Por ejemplo, se ha encontrado que los caudales de fluido a través de los materiales matriciales contemplados aquí son bastante altos, pero el área superficial de la estructura no tejida subyacente es menos densa que los materiales de flujo axial típicos, tales como la nitrocelulosa. Dada la rápida velocidad de flujo de la muestra, a menudo es importante obtener una liberación rápida de los reactivos depositados en la matriz para garantizar una oportunidad máxima para que el reactivo interactúe y se una (por ejemplo, en un inmunoensayo) a un analito en la muestra. Además, dado que la estructura no tejida subyacente es menos densa, la concentración de reactivo unido a la estructura es menor en comparación con

los dispositivos tradicionales. Esta concentración más baja afecta a las líneas/los reactivos de captura de prueba y control y a las señales resultantes. Por lo tanto, los reactivos y las concentraciones se seleccionan para mejorar la liberación de los reactivos (conjugados) que interactuarán con un analito deseado; los reactivos y las concentraciones de los reactivos de captura se seleccionan para unirse bien con la estructura no tejida subyacente; y los reactivos y las concentraciones de los reactivos de marcado se seleccionan para proporcionar una señal visual intensa o

5 amplificada de los resultados de la prueba.

En ciertas realizaciones, los reactivos de captura para la línea de prueba se ajustan en pH para hacerlos más ácidos de lo normal (por ejemplo, choque por pH bajo), lo que se ha demostrado que mejora la unión de los reactivos a la estructura matricial subyacente. También puede emplearse el tratamiento de los reactivos de captura con sal (por ejemplo, acetato de sodio) para mejorar la unión. También se puede emplear reticulación especializada (por ejemplo, reticulantes de papel u otro tratamiento o reactivo para contribuir a la adherencia a la estructura matricial).

10

En una realización a modo de ejemplo para una prueba de embarazo (hCG), algunos de los reactivos comprenden los siguientes:

15

- Línea de prueba policlonal

- Línea de control: Línea de control de cabra anticonejo (GAR)
  - Conjugado de control correspondiente: Conjugado de control rbigG (IgG de conejo)
- Línea de prueba: hCG de cabra antialfa, anticuerpo policlonal ABACG-0500 (Arista)
  - Conjugado de prueba correspondiente: Conjugado anti-BhCG del Clon 2 (oro coloidal) (Arista)

20

- Línea de prueba monoclonal

- Línea de control: Línea de control de cabra anticonejo (GAR)
  - Conjugado de control correspondiente: Conjugado de control rbigG (IgG de conejo)
- Línea de prueba: Anti-hCG monoclonal del clon 1 (Arista)
  - Conjugado de prueba correspondiente: Conjugado anti-BhCG del Clon 2 (oro coloidal) (conjugado BBI o Arista)

25

30

- Pueden emplearse micropartículas de látex en lugar de oro para el indicador de línea de prueba. Como las partículas de látex son mayores, estas partículas brindan la oportunidad de incorporar copias de anticuerpos adicionales y de amplificar las señales resultantes, mejorando así la sensibilidad

35

- Conjugados
  - 15-25 % de azúcares para contribuir a encapsular el conjugado en la banda y a liberarlo con la solución (por ejemplo, 10 % de sacarosa, 5 % de trehalosa)
- Tampones/reactivos de la zona receptora de la muestra:

40

- BSA (1-2 %)
- Tampón Tris/pH 8,0 (Tris/8,0) con concentraciones bajas (0,1 %) de tensioactivos Tween-20 y NP40, suero, NP40, tween20
- Borato

45 Se contemplan diversos revestimientos de acuerdo con los métodos y los dispositivos descritos en la presente memoria. "Revestimientos" generalmente puede referirse (1) a reactivos usados para depositar reactivos para asegurar su pronta solubilidad en respuesta al contacto con una muestra o para adherirlos a un material matricial; o (2) para tratar un material tal como un material matricial para ajustar su capacidad, por ejemplo, de absorber o repeler agua o una muestra. En esta sección, se analizan los revestimientos relacionados con la deposición de reactivos.

50

La Figura 6, por ejemplo, detalla algunos de los tipos de revestimientos que se contemplan y algunos de sus usos. Como puede verse, en la presente memoria se contemplan resinas resistentes a la humedad, alcohol polivinílico (PVA), poliamida-epiclorhidrina (PAE), alginato de propilenglicol (PGA), colágeno, gelatina, películas solubles, polietilenglicol (PEG), silicona soluble en agua, sol geles con sílice y sin sílice, hidrogeles (por ejemplo, hidrogeles de PVA y/o PGA), ceras naturales, hidrosolubles y dispersables o solubles en agua, entre otros, incluyendo diversos revestimientos adicionales dispersables o solubles en agua que no afectan negativamente a la operatividad de los reactivos, tales como reactivos basados en anticuerpos contemplados en la presente memoria. Otros polímeros solubles en agua incluyen, por ejemplo, los presentados en las patentes estadounidenses n<sup>os</sup> 4.256.724, 5.399.500, 7.425.292, 7.666.337, 7.910.641, 8.282.954, 8.383.198; Water Soluble Polymers, disponible en <<snf.com.au/downloads/Water\_Soluble\_Polymers\_E.pdf>>.

55

60

Con suma frecuencia, el revestimiento es naturalmente soluble o dispersable o soluble en agua (u otro fluido como una muestra líquida, que incluye orina, sangre, suero, bilis, líquido cefalorraquídeo, linfa, saliva, fluidos gástricos, etc.), lo que significa que, al entrar en contacto con el fluido, el material polimérico se convierte en un líquido o una solución homogénea. Para facilitar la referencia, estos revestimientos se denominan solubles en agua, pero en este significado

65

se incluye la solubilidad pretendida en cualquiera de los diversos tipos de muestras líquidas contemplados en la presente memoria. Una ventaja de usar un revestimiento que es naturalmente soluble en agua en lugar de un revestimiento no hidrosoluble que no es soluble en agua es que el reactivo, como receptor, ligando y/o marcador, se libera rápidamente del revestimiento soluble en agua después del contacto con una muestra acuosa, que luego queda disponible para una reacción de unión. Otra ventaja es que el revestimiento soluble en agua se aplica fácilmente a un soporte o material matricial no sintético usando métodos y agentes estándar. Véanse, por ejemplo, Kim y Herr, *Biomicrofluidics* 7 (4): 041501 (julio de 2013); Qian et al., *Clin. Chem.* 46 (9): 1456-1463 (2000); Reis et al., *Mat. Res.* 9(2): 185-191 (2006).

Los materiales de revestimiento naturalmente solubles en agua que son útiles en los presentes dispositivos y métodos son preferiblemente solubles en la medida en que una capa del recubrimiento de aproximadamente 0,25  $\mu\text{m}$ -1,0 mm de grosor se disuelva en menos de aproximadamente 60 minutos (preferiblemente menos de 10 minutos, o menos de 5 minutos, o menos de 3 minutos, menos de 2 minutos o menos de 1 minuto) cuando entre en contacto con agua a una temperatura predeterminada o un intervalo de temperaturas, como la temperatura del cuerpo humano. Los revestimientos más frecuentes se disuelven en menos de 60 segundos cuando entran en contacto con el agua (por ejemplo, orina) a la temperatura corporal o en torno a de ella. Ejemplos de materiales poliméricos que son útiles en la presente invención incluyen hidroxipropilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa y carboxipropilcelulosa. Otros materiales poliméricos útiles incluyen gelatina sin endurecer, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, poliacrilamida o cualquier mezcla o copolímero. El revestimiento se puede aplicar como una capa por medios conocidos.

En ciertas realizaciones, cuando las zonas primera y segunda de reactivos de la invención están contenidas en una sola capa de un elemento analítico, un método para preparar esa capa es preparar una capa de propagación (por ejemplo, patente estadounidense n.º 4.258.001), tener un material biológicamente activo tal como un anticuerpo inmovilizado en las superficies de las partículas. A continuación, se recubre la primera capa con una solución de un material polimérico soluble en agua y un segundo material biológicamente activo tal como un reactivo de antígeno marcado con el anticuerpo. Esta etapa de recubrimiento se realiza, por ejemplo, de manera que el polímero soluble en agua se propague en la capa de propagación durante la operación de recubrimiento, recubriendo las partículas de polímero de tal manera que los dos materiales biológicamente activos no reaccionen.

El alginato de propilenglicol, la sacarosa, PVG, PEG u otro material de revestimiento presentado en la presente memoria se encuentra a menudo, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 50 % en peso seco de la composición de revestimiento. Los materiales de revestimiento contemplados en la presente memoria a menudo tienen una amplia variación de viscosidad. Un ejemplo de un material de revestimiento de alta viscosidad es una solución acuosa al 2 % del material que tiene una viscosidad en el intervalo de 700 a 1800 mPa·s a 25 °C. Un ejemplo de un material de revestimiento de baja viscosidad es una solución acuosa al 2 % del material que tiene una viscosidad en el intervalo de 20-30 mPa·s a 25 °C. En general, los revestimientos de alta viscosidad se emplean en cantidades más bajas que los empleados para los revestimientos de baja viscosidad.

En ciertas realizaciones, se utilizan múltiples revestimientos o materiales de revestimiento dispersables o solubles en agua, opcionalmente en un formato de capas, para formar un canal microfluídico (o canales múltiples) en una capa de revestimiento o dentro de múltiples revestimientos. En tales realizaciones, se puede crear un dispositivo de estilo microfluídico que permita o facilite el paso de una muestra (o una porción de la misma) y reactivos a través del canal o de los canales microfluídicos. Para la formación de canales se contempla cualquiera de diversas técnicas conocidas en la técnica. El canal microfluídico puede formar opcionalmente una zona/porción específica, o múltiples zonas/porciones, del dispositivo. Por ejemplo, la zona receptora de la muestra, la zona de marcador, la zona de prueba y/o la zona absorbente. En ciertas realizaciones, cuando se emplean canales microfluídicos, la velocidad de dispersión o disolución disminuye de manera que el revestimiento o los revestimientos usados en el dispositivo se dispersan o se disuelven durante un periodo de tiempo prolongado que comienza después de completar un ensayo usando el dispositivo. Preferiblemente, tales materiales se disuelven o se dispersan en agua en menos de un mes o una semana de contacto con una muestra, más preferiblemente en menos de un día. En tales realizaciones, a menudo se seleccionan materiales de revestimiento dispersables o solubles en agua para proporcionar tiempos de dispersión o disolución más largos (por ejemplo, menos de aproximadamente 3 meses, o menos de aproximadamente 6 o 9 meses).

En ciertas realizaciones, un excipiente —por ejemplo, un ácido, una base, etc.— es puesto en contacto, proporcionado o utilizado para mejorar o acelerar la disolución o dispersión de materiales de los dispositivos contemplados en la presente memoria. En ciertas realizaciones, al menos un revestimiento de los revestimientos contemplados en la presente memoria comprende un revestimiento entérico.

La zona receptora de la muestra, la tira reactiva y/o la zona absorbente se pueden estampar en relieve para mejorar la captura de líquido y la gestión del flujo de líquido. Por ejemplo, se pueden proporcionar patrones de relieve para guiar el líquido a áreas menos densas desde áreas más densas o para crear uno o más canales para trasvasar o dirigir el líquido de una parte del dispositivo a otra. En ciertas realizaciones, el estampado en relieve puede ser usado para interrumpir, ralentizar, cambiar o redirigir la absorción de líquido dentro del material matricial del dispositivo o uno de sus componentes. El estampado en relieve también se puede utilizar para aumentar o alterar el área superficial del

material matriz que está disponible para la absorción de líquido.

5 Para soportar los rigores del uso del dispositivo y/o para mantener la rigidez del dispositivo durante y después de la aplicación de la muestra, la matriz que comprende la vía de flujo del fluido puede estar incorporada en una carcasa, cubierta u otro soporte (a menudo denominada en la presente memoria "capa de soporte" o "carcasa"). Es importante destacar que este soporte o carcasa debe ser dispersable en agua o biodegradable. La mayoría de las veces, la carcasa o soporte es desechable en el inodoro y satisface las directrices de desechabilidad indicadas en la presente memoria. Si bien lo más frecuente es que la carcasa o soporte comprenda el mismo material matricial que la vía de flujo del fluido, puede comprender un material matricial diferente si se satisfacen las directrices de eliminación. Los inventores han descubierto que los materiales matriciales presentados en la presente memoria a menudo se vuelven maleables o flexibles cuando son expuestos a una muestra líquida. Si bien esta es una cualidad deseable en un material dispersable en agua, la integridad de la vía de flujo debe mantenerse durante un tiempo suficiente para completar un ensayo como una prueba de embarazo. Por lo tanto, a menudo se proporciona una carcasa o soporte de manera que soporte la vía de flujo del fluido durante un ensayo y durante un periodo de tiempo después del contacto de la muestra. En ciertas realizaciones, la carcasa puede adaptarse de modo que no entre en contacto con la muestra, incluso después de que entre en contacto con el dispositivo. En tales realizaciones, la carcasa o soporte puede comprender el mismo tipo básico de material matricial, que puede ser tratado o no tratado (por ejemplo, con una sustancia hidrófoba u otro material de revestimiento soluble en agua), y puede tener relieve o no tenerlo.

10 El soporte a menudo se adapta para abarcar, encerrar o envolver la tira de prueba, incluyendo, si está presente, la zona de muestra, la zona de marcador, la zona de prueba y/o la zona absorbente. El soporte también puede denominarse carcasa en la presente memoria.

25 Según la invención, la carcasa o soporte comprende un material matricial que está tratado con un reactivo tal como una solución hidrófoba; por ejemplo, una solución que incluye, por ejemplo, una nanopartícula hidrófoba. La capa de soporte puede comprender o incluir una película soluble en agua (por ejemplo, AQUAFILM®, MonoSol, LLC, Portage, Indiana), polímero soluble en agua (por ejemplo, ácido poliláctico y muchos otros conocidos en la técnica), una cera (por ejemplo, cera de soja) u otro tratamiento, coextrusión o revestimiento. A menudo, cuando se selecciona una película soluble en agua o un polímero soluble en agua, es soluble a temperaturas ambientales normales, incluidos los intervalos de temperatura promedio o bajos típicos en sistemas de tratamiento de aguas residuales o desechos.

30 La capa de soporte también puede proporcionar cualidades protectoras al dispositivo. Por ejemplo, la capa de soporte puede estar formada como una cubierta que protege la tira reactiva y/u otros componentes del dispositivo del entorno exterior. Tal protección mejorará a menudo la vida útil y/o facilitará la portabilidad funcional del dispositivo.

35 La capa de soporte también puede comprender porciones extraíbles ubicadas sobre, cubriendo o rodeando la región de prueba y/o la zona receptora de la muestra para proporcionar una protección mejorada del dispositivo contra la contaminación antes o durante el uso. Tales porciones extraíbles pueden comprender una porción adicional de material matricial (a menudo tratado para mantener cierta hidrofobia) adherido al soporte o adyacente a la región de prueba y/o a la zona receptora de la muestra. En ciertas realizaciones, la porción extraíble comprende una porción del soporte (o material adherido al mismo) que se puede rasgar para retirarla antes o después de su uso, que incluye entrantes que rodean al menos una parte de la porción que se va a eliminar y que, opcionalmente, incluye una lengüeta u otra porción para agarrarla para rasgar.

40 Sin entrar en consideraciones teóricas de funcionamiento en particular, la inclusión de una capa de soporte que se asemeje mucho a la tira reactiva puede afectar a la dinámica del fluido y al flujo de fluido a través de la tira reactiva. Por ejemplo, el soporte puede estar laminado a la tira reactiva; la tira reactiva puede estar situada en contacto con el soporte, intercalada entre las porciones o el soporte, o tener otra configuración. Cuando la capa de soporte afecta a los caudales de fluido a través de la tira reactiva, se proporciona la inclusión de una capa de soporte que hace contacto con la tira reactiva para aumentar o disminuir los caudales a través de porciones de la tira reactiva o de toda ella. A menudo, la capa de soporte está dotada de porciones ventiladas para permitir que el aire arrastrado escape de la matriz a medida que el fluido de muestra fluye a través del material matricial.

45 A menudo, se proporciona la capa de soporte para asegurar que la tira de prueba se mantenga en una orientación predeterminada en toda la duración de un ensayo. Por ejemplo, la capa de soporte se proporciona de manera que la tira reactiva se mantenga en una orientación horizontal, vertical o inclinada predeterminada durante un ensayo. A menudo, el soporte proporciona esta capacidad debido a su rigidez estructural en toda la duración de un ensayo.

50 También se ha descubierto que a menudo es beneficiosa la inclusión de una porción reforzada en el dispositivo alrededor del área de la zona receptora de la muestra. En particular, el área de la zona receptora de la muestra del dispositivo generalmente verá el mayor contacto de volumen de fluido, y también será la porción del dispositivo en contacto durante el periodo de tiempo más largo mientras se realiza un ensayo. Este mayor volumen y este mayor tiempo pueden afectar a la integridad del dispositivo en esta región, de manera que pueda comenzar a ablandarse, doblarse, disolverse o romperse prematuramente antes de completar un ensayo. Por lo tanto, a menudo se proporciona un refuerzo que comprende o está comprendido en el área de tratamiento de la muestra (el área alrededor de la zona receptora de la muestra). Se pueden utilizar tratamientos tales como la inclusión de una capa de cera de

soja, Progel (M1, disponible en LD Davis Industries), un polímero soluble en agua, o similares, detrás de la zona receptora de la muestra. Pueden utilizarse capas adicionales de material de soporte o material matricial. Puede utilizarse un revestimiento hidrófobo (que incluya, por ejemplo, una solución de nanopartículas hidrófobas). Como tal, el aspecto "reforzado" de esta porción se proporciona en relación con el volumen de fluido introducido en el dispositivo y, a menudo, no comprende un componente físico separado, sino más bien un tratamiento de superficie, un tratamiento de matriz o coextrusión.

Lo más frecuente es que el soporte se proporcione en una orientación física, y con las dimensiones correspondientes, que le permitan pasar a través de un sifón de inodoro en una sola descarga. Por ejemplo, como se muestra en la Figura 17C, los aspectos W y W' se refieren a la anchura del dispositivo que a menudo se adapta de tal manera. Si bien estas dimensiones se incluyen a menudo, no son requeridas. Por ejemplo, el dispositivo puede estar provisto de tal manera que el material matricial se ablande de forma que se vuelva flexible en una materia que despeje el sifón del inodoro con una sola descarga. De nuevo, con referencia al dispositivo representado en la Figura 17C, los extremos exteriores (o salientes) de uno o ambos aspectos W y W' (es decir, fuera de la porción elevada (21)), pueden ablandarse más rápidamente que la porción elevada (21), permitiendo que se plieguen. Alternativamente, la porción elevada (21) puede ablandarse más rápidamente que los extremos exteriores de uno o ambos aspectos W y W', permitiendo que los salientes se plieguen junto con la porción elevada (21) como eje.

En la presente memoria también se contemplan métodos de fabricación de dispositivos a modo de ejemplo, como se indica en otra parte. En realizaciones a modo de ejemplo, se usa una única línea de fabricación para preparar tales dispositivos. Se proporciona tal eficiencia en la fabricación, ya que el dispositivo a menudo se compone de un solo tipo de matriz, que incluye diversos tratamientos y adaptaciones de la superficie matricial. Un proceso a modo de ejemplo implica algunos de los siguientes procesos:

- Se proporciona un solo rodillo de material matricial, se extiende y se divide en múltiples bandas de material matricial. A partir de este único rodillo de material matricial, se puede fabricar un dispositivo completo, como se contempla en la presente memoria, a partir de las múltiples bandas. La división del rodillo único de material matricial puede ocurrir como parte de un proceso continuo de fabricación, o puede ocurrir en una etapa separada de la etapa de fabricación del dispositivo. En cualquier caso, múltiples bandas del mismo material matricial pueden ser tratadas (con reactivos) de manera diferente, laminadas, perforadas, cortadas, etc. y combinadas en un proceso que produce los dispositivos finales descritos en la presente memoria.
- Se aplica una solución hidrófoba (como se contempla en la presente memoria) a una o más de las múltiples bandas de la matriz; por ejemplo, mediante inmersión y compresión, pulverización, impresión, deposición por vapor u otro método (es decir, laminación). Como tal, una o más de las múltiples bandas que se dividen en la etapa anterior pueden tratarse con una solución hidrófoba y otras permanecen sin tratar.
- La matriz se seca, si es necesario, usando, por ejemplo, una temperatura elevada, aire seco, tambores de secado, tecnología de microondas u otro método.
- Conversión por troquel giratorio del rodillo laminado recubierto. Por ejemplo, se perforan uno o más componentes del soporte a partir del material matricial laminado/tratado hidrófobamente usando un troquel giratorio de acero.
- Se aplican reactivos a la matriz usando, por ejemplo, uno o más de los siguientes métodos o técnicas.
  - Sistemas BioDot
  - Rayado por rodillo de huecograbado
  - Técnicas tradicionales de rayado
  - Para la aplicación de conjugados, a menudo se emplean las siguientes técnicas. Estas permiten la colocación de uno o múltiples tipos de conjugado, opcionalmente, en diferentes ubicaciones del dispositivo:
    - Pulverización
    - Remojo
    - Otras
  - Para la aplicación de un tampón en la zona de muestra, a menudo se emplean las siguientes técnicas. Estas permiten la colocación de tampones, opcionalmente, en diferentes ubicaciones del dispositivo:
    - Pulverización
    - Remojo
    - Rayado
- Cuando los dispositivos comprenden múltiples componentes (aunque comprendan el mismo material o tipo de matriz), los diversos componentes a menudo se ensamblan automáticamente; por ejemplo, empleando una o más de las siguientes técnicas:
  - Montaje mecánico que no requiere adhesivo alguno
- Encajes a presión, soldadura ultrasónica, estampación en relieve, etc.

- Puntadas/cosido

- Hilo de PVA soluble en agua
- Hilo de algodón
- Otros

- También pueden emplearse adhesivos sensibles a la presión, que deben ser solubles en agua. Estos a menudo se proporcionan en fundas de liberación para aplicaciones de rodillo a rodillo.
- Los adhesivos líquidos/en aerosol generalmente también son solubles en agua. El almidón líquido es un tipo de adhesivo a modo de ejemplo.

- La composición química del dispositivo a menudo se protege mediante una pantalla o una ventana cuando se pretende producir un resultado visible durante el uso. La gelatina, por ejemplo, proporciona una ventana transparente que no se arruga con el uso, pero que aún se disuelve por completo. La gelatina está disponible en PerfectaGel (por ejemplo, Silver 170+ Bloom, gelatina porcina de calidad A 100 %, aproximadamente 0,015 cm de grosor de hoja). También se pueden emplear películas MonoSol y similares.
- El dispositivo puede estar estampado en relieve para proporcionar textura y forma al soporte u otros componentes, lo cual se proporciona normalmente mediante estampado a presión, aunque también se puede emplear estampado por calentamiento. El dispositivo, incluidas porciones del mismo, como el soporte, puede perforarse o cortarse para mejorar la humectabilidad, la capacidad de hundimiento y/o la desechabilidad del dispositivo, incluida la facilitación de la dispersión en agua del material matricial.
- Impresión: El material matricial, incluido el material de soporte, puede tener porciones impresas que proporcionen diversos aspectos o propósitos relacionados con la información, iconografía, instrucciones, estética, marca comercial o funcionales. En ciertas realizaciones, las líneas de prueba y/o control incluyen una tinta o tinción impresa (por ejemplo, azul, verde, rosa, etc.) para localizar la posición de estas líneas. Para dicha impresión se puede emplear la impresión flexográfica o serigráfica (por ejemplo, la marca RUCO Serie T200; las tintas de vinilo para dispositivos médicos No Tox de la marca Colorcon). Esta porción impresa de las líneas prueba y/o de control proporciona otro control y generalmente no afecta a los resultados del ensayo, sino que mejora más bien la legibilidad de los resultados del ensayo.

Una realización de las presentes enseñanzas puede incluir un dispositivo de inmunoensayo o un dispositivo de prueba diagnóstica que se puede fabricar utilizando un proceso de fabricación continuo o una línea basada en conversión para formar el dispositivo. El proceso de fabricación puede superponer materiales reactivos sobre una matriz usando uno o más procesos de impresión o revestimiento. Esto elimina la necesidad de la laminación final de todos los componentes separados, porque el proceso integra componentes de forma inherente. Las técnicas de fabricación se pueden llevar a cabo en una máquina o en varias máquinas en una línea automatizada o semiautomatizada. Este proceso también se puede simular manualmente, por ejemplo, para una pequeña cantidad de unidades. El dispositivo de inmunoensayo o el dispositivo de prueba diagnóstica puede ser cualquier dispositivo de flujo axial usado para detectar una sustancia química usando un reactivo.

La Figura 1 representa una realización de un dispositivo de inmunoensayo que puede formarse usando una realización de las presentes enseñanzas. Será evidente para una persona con dominio normal de la técnica que la estructura representada en la Figura 1 representa una ilustración esquemática generalizada y que se pueden agregar otras estructuras o elementos o se pueden eliminar o modificar estructuras o elementos existentes.

La Figura 1 representa una realización que incluye una o más capas matriciales que juntas forman una matriz, una o más capas de canal (es decir, canales, canales de reactivo) formadas en o dentro de la matriz, y uno o más reactivos formados dentro de uno o más canales y en o dentro de la matriz.

Las una o más capas matriciales pueden ser capas no tejidas fabricadas, por ejemplo, a partir de papel, pasta de celulosa, celulosa unida a hidrógeno, tela no tejida formada por chorro de aire, otro material adecuado dispersable en agua y/o soluble en agua, o una combinación de dos o más de estos. En una realización, la una o más capas matriciales pueden ser un material HYDRASPUN®, disponible en Suominen Corporation, o una combinación de HYDRASPUN® con uno o más de los materiales anteriores.

Los uno o más canales que contienen los uno o más reactivos pueden formarse en la matriz usando diversos materiales tales como papel, celulosa u otro material adecuado para formar paredes de canal o bordes de canal. Los canales pueden formarse distribuyendo un material adecuado sobre la matriz directamente en un patrón; por ejemplo, usando un proceso de impresión tal como impresión por chorro de tinta u otra impresión de los canales. Los canales se pueden formar aplicando una capa o revestimiento con un patrón previo que tiene aberturas de canal sobre la capa matricial. En una realización, los canales se pueden formar del mismo material que la matriz o de un material diferente. En otra realización, los uno o más canales pueden formarse estampando, indentando o deformando de otro modo la matriz de manera que las paredes del canal se formen a partir de la propia matriz. Los canales pueden formarse usando cualquier técnica adecuada, como estampar la matriz en relieve con una rueda o cuchilla, estampar la matriz con un sello o troquel, retirar una porción de la matriz usando una cuchilla o un láser, u otra técnica adecuada.

Los reactivos pueden formarse partiendo de cualquier material reactivo conocido que sea adecuado para el inmunoensayo que se va a realizar usando el dispositivo de prueba diagnóstica. En una realización, el reactivo se puede incrustar o impregnar en otro material, tal como un material celulósico u otro material soluble en agua y/o dispersable en agua, y luego distribuirse sobre, encima o dentro de una matriz. Además, los reactivos se pueden separar físicamente de una o más capas de matriz mediante una o más capas o revestimientos, como un revestimiento no nitrocelulósico. En una realización, el inmunoensayo puede diseñarse para analizar diversos analitos. Por ejemplo, en una realización, el inmunoensayo podría diseñarse para comprobar la presencia de la hormona hCG, lo que permitiría que el dispositivo devuelva un resultado con respecto a si la usuaria está embarazada. Sin embargo, el dispositivo puede diseñarse para analizar un número cualquiera de analitos, incluidos, entre otros, hCG-H y diversas drogas (como cocaína, THC o anfetaminas), glucosa, cetonas, hormona luteinizante o hemoglobina. Dependiendo del analito elegido, el dispositivo puede diseñarse para analizar diversas afecciones, enfermedades u otra información, incluida la presencia de enfermedades de transmisión sexual, diabetes, embarazo, enfermedad renal o cánceres. Los reactivos pueden ser dispersables en agua y/o solubles en agua. Estos dispositivos se pueden usar en diversas industrias, incluida la médica, la seguridad alimentaria y el control medioambiental. Además, pueden añadirse otros componentes dispersables en agua y/o solubles en agua para una función mejorada, tales como circuitos solubles.

La Figura 2 es un diagrama de flujo que representa un proceso de fabricación generalizado de acuerdo con una realización de las presentes enseñanzas para formar la estructura de la Figura 1 u otra realización. Se apreciará que, si bien el proceso se describe y representa como una serie de acciones o eventos, las presentes enseñanzas no están limitadas por el orden de dichas acciones o eventos. Algunas acciones pueden ocurrir en orden diferente y/o simultáneamente con otras acciones o eventos aparte de los descritos en este documento. Además, pueden no requerirse todas las etapas del proceso para implementar una metodología de acuerdo con uno o más aspectos o realizaciones de las presentes enseñanzas. Se apreciará que se pueden añadir etapas de procesamiento o se pueden eliminar o modificar etapas de procesamiento ilustradas.

Como se muestra en la Figura 2, la matriz puede almacenarse como en una o más capas matriciales —por ejemplo, en uno o más rodillos o bobinas—, como una o más hojas de matriz individuales, o la matriz puede almacenarse en otra forma adecuada. Cualquier procesamiento inicial se realiza para preparar la matriz para la fabricación del dispositivo; por ejemplo, calandrado para controlar la topografía de la superficie o el contenido de humedad.

Puede usarse una única capa de matriz como matriz; por ejemplo, si una única capa es suficiente. En otra realización, o dos o más capas de matriz se pueden laminar conjuntamente, como se muestra en el diagrama de flujo de la Figura 2 para crear una banda. La laminación se puede realizar usando cualquier proceso adecuado; por ejemplo, unión térmica (calor), unión ultrasónica, unión usando un agente adhesivo adecuado dispersable en agua y/o soluble en agua, como alcohol polivinílico (PVOH o PVA), polietilenglicol (PEG) u otro material soluble en agua y/o dispersable en agua. La laminación puede realizarse en una instalación de fabricación de dispositivos de prueba diagnóstica o por un proveedor antes de que la instalación de fabricación los reciba.

Posteriormente, se pueden formar uno o más canales que dirijan el flujo de líquido sobre o dentro de la matriz; por ejemplo, estampado de la matriz en relieve, impresión por chorro de tinta u otra impresión de los canales usando celulosa, PVOH u otro material adecuado de impresión de canales y/o corte por láser de los canales en la matriz. En otra realización, los canales pueden formarse antes de laminar la banda de matriz usando, por ejemplo, una capa de matriz superior con patrón que tiene una o más aberturas de canal en la misma.

A continuación, se distribuyen en la matriz uno o más reactivos, anticuerpos, composiciones químicas de diagnóstico, etc. (en lo sucesivo, colectivamente, “reactivos”) necesarios para ejecutar el diagnóstico como al menos uno de forma líquida, sólida o de gel, o una combinación de dos o más de estas formas, usando funciones y procesos nativos de los procesos de fabricación de productos tanto de flujo axial como de papel. La técnica de distribución de reactivos puede incluir la aplicación por contacto sobre la matriz usando, por ejemplo, un proceso de distribución por estampado en relieve, serigrafía o punta de contacto. Distribuidores adecuados por punta de contacto incluyen, por ejemplo, los disponibles en BioDot (Irvine, California), Imogene Technology, Inc. (Hanover, Nueva Hampshire) y ZETA Corporation (Corea). El proceso de aplicación de reactivo puede incluir además un proceso de distribución sin contacto usando, por ejemplo, distribuidores de solenoide accionados por bomba sin contacto, distribuidores de aerógrafo, impresión por chorro de tinta, revestimiento por pulverización u otro proceso adecuado. Se puede usar el mismo proceso de distribución, o un proceso diferente, para distribuir marcas tales como gráficos o texto en la matriz u otra superficie; por ejemplo, palabras, símbolos, instrucciones, números de lote, números de pieza, etc., ya sea en paralelo o en secuencia con la aplicación del reactivo. Las marcas pueden incluir un código de respuesta rápida (es decir, código QR®), código de barras u otro código que puede ser leído, por ejemplo, por un teléfono móvil, un escáner óptico o electrónico u otro dispositivo. Puede imprimirse cualquier marca utilizando cualquier tinta o pigmento compatible con el dispositivo y el proceso de aplicación. Como se ha expuesto anteriormente, en una realización, el reactivo se puede incrustar o impregnar en otro material, tal como un material celulósico u otro material soluble en agua y/o dispersable en agua, y luego distribuirse sobre, encima o dentro de una matriz.

Después de la aplicación del reactivo, se puede aplicar un revestimiento opcional al reactivo y/o a las marcas para evitar, por ejemplo, la contaminación o aumentar la estabilidad química de uno o más reactivos. El revestimiento opcional puede incluir un revestimiento que no sea de nitrocelulosa. Los revestimientos contemplados incluyen resinas

con resistencia temporal a la humedad (por ejemplo, poliacrilamida glioxalada, sof-strength® y otras), PVOH (por ejemplo, Elvanol, película de PVA soluble en agua y/o dispersable en agua SOLUBLON®, Poval, PVA/PGA), MonoloIRX, películas solubles disponibles en Adhesives Research, polietilenglicoles como los PEG CARBOWAX™, sacarosa, colágeno, gelatina, sílice modificada orgánicamente u otro sol-gel, ceras naturales dispersables en agua y/o solubles en agua como cera de soja, siliconas dispersables en agua y/o solubles en agua, u otro revestimiento adecuado.

Subsiguientemente, la matriz puede enviarse a un dispositivo de curado, como un horno de secado.

10 En este punto, o durante cualquier otro punto del proceso de fabricación, se puede realizar una inspección y/o un control de calidad en el dispositivo en proceso o en el dispositivo completo para asegurar la calidad y la consistencia del producto.

15 A continuación, la matriz puede seccionarse en múltiples secciones matriciales individuales usando, por ejemplo, corte con una cuchilla giratoria, corte por láser, corte por estampación usando una cuchilla o un troquel de estampado con patrón (por ejemplo, troquel compuesto o combinado), corte con cuchilla, etc. El seccionamiento de la matriz separa, segmenta y/o da forma a la matriz continua en múltiples dispositivos de secciones matriciales individuales, matrices de dispositivos, tiras reactivas u otras secciones de dispositivos individuales. Posteriormente, cada matriz de dispositivo individual puede empaquetarse, por ejemplo, colocando y sellando cada matriz en una bolsa tal como una bolsa a prueba de humedad o impermeable. La bolsa puede ser una lámina de metal, una película de plástico o un material soluble en agua y/o dispersable en agua. En una realización, se puede usar para la bolsa un material de barrera contra la humedad biodegradable, dispersable en agua y/o soluble en agua.

25 La bolsa sellada puede ser empaquetada para que incluya un desecante. En una realización, el desecante puede ser un desecante de fusión en caliente u otro revestimiento desecante en una superficie interior del envase o bolsa. Se puede agregar a cada dispositivo, para su protección, una película desecante no permanente (eliminable) o una cubierta laminada, que se despega o se retira antes de usar el dispositivo. Se puede imprimir gel de sílice u otro desecante directamente en cada dispositivo para eliminar la necesidad de un desecante secundario o aumentarla. En una realización, la bolsa sellada puede incluir otro estabilizante químico. Por ejemplo, la bolsa se puede purgar con nitrógeno antes del sellado para eliminar o controlar de otro modo el oxígeno y la humedad dentro de la bolsa. En una realización, la colocación de la matriz y el reactivo dentro de la bolsa y/o el sellado de la bolsa pueden realizarse en una atmósfera de nitrógeno.

35 Se pueden empaquetar una o más bolsas selladas junto con materiales de instrucción en un paquete externo que puede incluir diversas formas diferentes, incluidas cajas, sobres, bolsas para colgar, etc. Uno o ambos de las instrucciones y el paquete externo pueden fabricarse a partir de diversos materiales dispersables en agua y/o solubles en agua y/o biodegradables, tales como papel u otro material celulósico.

40 El equipo de fabricación puede fabricarse a medida o ser de serie, o una combinación de los mismos. El montaje puede automatizarse mediante el uso de soporte lógico y soporte físico operativos.

45 En cualquier punto del proceso de la línea de formación de dispositivos, se pueden llevar a cabo otras etapas de fabricación opcionales para proporcionar al producto una o más características funcionales y/o estéticas. Estas etapas de fabricación opcionales pueden incluir calandrado, corte, perforación, estampación con relieve, moldeo por compresión u otro moldeo, corte o perforación por láser, fabricación aditiva (incluyendo, por ejemplo, el uso de papel de impresora 3D disponible, por ejemplo, en Mcor Technologies de Dunleer, Co. Louth, Irlanda), microperforado, estampado, plegado, enrollado, etc. Además, un dispositivo formado de acuerdo con una realización puede incluir otras estructuras que, en aras de la simplicidad, no se representan individualmente. Por ejemplo, puede formarse un dispositivo para que incluya un circuito eléctrico para el control u otras funciones, pudiendo ser el propio circuito eléctrico completamente o en buena medida dispersable en agua y/o soluble en agua después de su uso.

50 La Figura 3A es una sección transversal que representa un proceso continuo 300 de fabricación de un dispositivo de prueba de acuerdo con una realización de las presentes enseñanzas. Aunque la Figura 3A representa múltiples equipos separados en una línea, se apreciará que esta técnica de fabricación puede estar en una línea o alojada toda en una sola máquina. En 302, se pueden desenrollar múltiples capas matriciales de múltiples bobinas y laminarlas conjuntamente 304 para formar una matriz o banda. La matriz también puede ser una capa única o múltiples capas prelamadas desenrolladas de una bobina. En 306, se pueden formar uno o más canales en la matriz. En 308, se pueden aplicar uno o más reactivos a la matriz, y en 310 se pueden aplicar a la matriz uno o más gráficos, texto u otras marcas. En 312, los reactivos y/o las marcas se pueden secar o curar de otro modo; por ejemplo, usando un calefactor, una fuente de calor radiante u otro proceso de curado. En 314, se puede formar una almohadilla 912 de recogida (véase, por ejemplo, la Figura 9) usando un proceso de estampado en relieve u otro proceso como se describe en la presente memoria; por ejemplo, con referencia a la Figura 9, expuesta posteriormente. En 316, la matriz puede segmentarse, conformarse y/o formarse en múltiples tiras reactivas individuales, dispositivos de prueba o subsecciones de dispositivos. En 320, se puede añadir un desecante y/u otro estabilizador químico. En 322, el dispositivo se puede colocar en una bolsa u otro soporte y se pueden añadir instrucciones. En 324, se pueden empaquetar una o más bolsas e instrucciones en un paquete externo para su envío a una instalación de

almacenamiento, mayorista, minorista o usuario final.

Se entenderá que el proceso 300 de la Figura 3A puede ser un proceso continuo en línea realizado por una o más máquinas, o el proceso puede estar segmentado en dos o más subprocesos por lotes realizados por dos o más máquinas. Los subprocesos por lotes se pueden realizar en la misma instalación de fabricación o en diferentes instalaciones. En una realización, el proceso 300 puede ser completamente automático, parcialmente automático y parcialmente manual o totalmente manual. Cualquiera o la totalidad de los componentes del dispositivo de prueba representados en 318, el desecante en 320, la bolsa y las instrucciones en 322 y el paquete externo en 324 puede ser dispersable en agua y/o soluble en agua y/o biodegradable, y puede ser desechable y, por lo tanto, desechable dentro de un inodoro. El método 300 de la Figura 3A puede incluir otras acciones o elementos de procesamiento que, en aras de la simplicidad, no se representan, mientras que diversas acciones o elementos 302-324 de procesamiento representadas pueden eliminarse o modificarse.

La Figura 3B proporciona un diagrama de flujo del proceso relacionado con la fabricación de ciertos dispositivos a modo de ejemplo contemplados en la presente memoria.

Las Figuras 4-7 representan otras realizaciones de un dispositivo de inmunoensayo usado, por ejemplo, en pruebas diagnósticas. Los dispositivos de las Figuras 4-7 pueden formarse usando una realización de las presentes enseñanzas.

En la Figura 4A, el dispositivo incluye un revestimiento no nitrocelulósico sobre los reactivos.

En la Figura 4B, el dispositivo incluye los reactivos intercalados entre revestimientos no nitrocelulósicos.

En la Figura 5A, el dispositivo incluye un revestimiento no nitrocelulósico sobre los reactivos; por ejemplo, para proteger los reactivos. El canal se puede formar a partir de capas matriciales laminadas según se muestra. Los reactivos pueden estar al descubierto en uno o ambos extremos para permitir que el material biológico acceda y haga contacto físicamente con los reactivos.

En la Figura 5B, la matriz puede estar impregnada con uno o más reactivos. En una realización, los reactivos se pueden colocar sobre, encima o dentro de una primera capa matricial, luego se puede laminar conjuntamente una segunda matriz, de modo que los reactivos se interpongan o intercalen entre la primera capa matricial y la segunda capa matricial. El reactivo se puede incrustar o impregnar en otro material, como un material celulósico u otro material soluble en agua y/o dispersable en agua, y luego distribuirse sobre, encima o dentro de la primera matriz, luego laminado con la segunda matriz.

Según se representa en la Figura 6A, la matriz se puede modelar; por ejemplo, laminando o colocando en capas conjuntamente dos o más capas de matriz, o mediante la eliminación selectiva de una porción de una o más capas matriciales.

Según se representa en la Figura 6B, se puede aplicar o distribuir en la matriz un revestimiento no nitrocelulósico, y se pueden aplicar o distribuir uno o más reactivos sobre el revestimiento no nitrocelulósico.

Según se representa en la Figura 7, se pueden aplicar un revestimiento no nitrocelulósico y/o uno o más reactivos en un patrón en la matriz, de modo que el reactivo se separe físicamente de la matriz.

En una realización, las estructuras de las Figuras 1 y 4-7 pueden ser diversas realizaciones de una tira reactiva usada para probar la presencia de una sustancia química. En otra realización, las estructuras de las Figuras 1 y 4-7 pueden representar solo una porción de un dispositivo de prueba más grande; por ejemplo, un dispositivo de prueba como el mostrado en la Figura 9. La Figura 9 es una vista en planta que representa un dispositivo axial 900 que puede formarse de acuerdo con una realización de las presentes enseñanzas; por ejemplo, en un proceso continuo o en un proceso por lotes. La estructura de la Figura 9 puede incluir una matriz o banda 902, según se ha descrito anteriormente, un inmunoensayo 904 que incluye uno o más reactivos, según se ha descrito anteriormente, un indicador 906 de volumen para indicar el volumen de una muestra de recogida, un indicador 908 de control, una línea 910 de perforación o desgarrador, una almohadilla 912 de recogida y uno o más canales 914 dentro de los cuales se forman uno o más reactivos (Figura 1). La disposición de los diversos elementos de la Figura 9 no es la única contemplada y no debe limitarse a este diseño o a elementos individuales.

El dispositivo axial 900 puede formarse en un proceso de fabricación continuo similar al ilustrado en la Figura 3A. En una realización, el inmunoensayo 904, el indicador 908 de volumen y el indicador 908 de control pueden formarse en uno o más canales sobre o dentro de la matriz 902 según se ha descrito anteriormente. La almohadilla 912 de recogida puede estar formada para que incluya múltiples conductos o canales en relieve de derivación de fluido que, por ejemplo, dirigen el flujo de fluido en una dirección hacia los uno o más canales de reactivo. Los conductos de derivación de fluido se pueden formar sobre o dentro de la matriz utilizando cualquier técnica adecuada, como la estampación de la matriz 902 en relieve con una rueda o una cuchilla, la estampación de la matriz con un sello, la eliminación de una parte de la matriz usando una cuchilla o un láser, u otra técnica adecuada. La estampación de la matriz en relieve

para formar los conductos de la almohadilla de recogida puede compactar la matriz y aumentar la densidad del material de la matriz en los conductos estampados, aumentando así la hidrofobia de la matriz en los conductos para dirigir mejor el flujo de una muestra de prueba fluida hacia los canales de reactivo y hacia el reactivo. La estampación de la matriz en relieve también se puede usar para formar un patrón de almohadilla de recogida para aumentar el área superficial de la matriz, mejorando así la absorción de una muestra de prueba de fluido en la matriz en la ubicación de la almohadilla de recogida en relieve.

Así, una realización de las presentes enseñanzas puede formar un dispositivo de prueba diagnóstica utilizando un proceso de fabricación continuo o un proceso por lotes que está totalmente o en gran medida automatizado. Como tal, un dispositivo completo puede tener un coste de producción menor que otros dispositivos resultantes de procesos convencionales de formación de dispositivos de prueba diagnóstica. Todo el dispositivo de prueba (matriz o banda y reactivo) puede ser dispersable en agua y/o soluble en agua y/o desechable para su fácil eliminación después de su uso. Los materiales de embalaje pueden ser totalmente o en gran medida dispersables en agua y/o solubles en agua y/o desechables después de su uso.

Aunque las presentes enseñanzas se describen en la presente memoria con referencia a inmunoensayos y pruebas y diagnósticos médicos, la tecnología descrita en este documento se puede aplicar a cualquier diagnóstico de flujo lateral; por ejemplo, para su uso en otras industrias como el control medioambiental, la seguridad alimentaria o otras industrias que utilizan tecnología de prueba de flujo axial.

Con referencia a la Figura 11, se presenta un diagrama de flujo que proporciona un diagrama de decisión de alto nivel relacionado con la detección para utilizar un revestimiento o una solución de envasado especial en los dispositivos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, si el dispositivo satisface los estándares de vida útil de suficiente operatividad a 2 años de vida útil (u otro estándar de vida útil), puede no emplearse un revestimiento o un embalaje especial. La columna central del diagrama muestra algunas opciones a modo de ejemplo en las que se pueden prolongar la vida útil mediante el uso de soluciones de embalaje. Una opción que se emplea a menudo incluye el uso de una purga de nitrógeno de los materiales de embalaje antes de encerrar un dispositivo en un material de embalaje a prueba de humedad. La purga de nitrógeno crea un ambiente de bajo nivel de oxígeno o libre de oxígeno en el material de embalaje. Otra opción incluye el uso de una cubierta para el dispositivo en forma de película o cinta retirable que se quita antes de usar el dispositivo. Preferiblemente, la cubierta comprende un polímero dispersable en agua o soluble en agua. Otra opción es a menudo el uso de un material desecante junto con el dispositivo dentro de un material de embalaje a prueba de humedad. Otra opción es a menudo la inclusión de un material desecante dentro de una caja o recipiente que contiene uno o más dispositivos que, opcionalmente, pueden estar envueltos individualmente. En otra realización frecuente, se emplean una purga de nitrógeno y un desecante. Es importante apreciar que las soluciones de envasado descritas en el presente documento no se emplean necesariamente cuando la vida útil de un dispositivo es subóptima. Más bien, estas soluciones de embalaje se utilizan a menudo para proporcionar una solución de embalaje robusta de modo que los dispositivos, cuando se fletan, no requieran cuidados especiales o para permitir que estos dispositivos se almacenen en cualquiera de diversos entornos (incluyendo entornos de mucho calor y mucha humedad) sin afectar a la eficacia general de los dispositivos durante un período de tiempo prolongado.

También con referencia a la Figura 11, a menudo se considera el uso de revestimientos para mejorar la vida útil y la robustez de los dispositivos contemplados en la presente memoria. En particular, reactivos como los reactivos de anticuerpos pueden aplicarse al dispositivo y cubrirse con un revestimiento; los reactivos pueden mezclarse con el revestimiento y ser aplicados conjuntamente al dispositivo; los reactivos pueden colocarse sobre un recubrimiento previamente aplicado al dispositivo, o los reactivos pueden colocarse sobre un revestimiento previamente aplicado al dispositivo y debajo de otro revestimiento. Las Figuras 4-8 representan ejemplos genéricos de estas realizaciones, incluidas las líneas de control y de prueba. La Figura 8 muestra un revestimiento colocado sobre una matriz contemplada en la presente memoria, estando el recubrimiento tanto encima como parcialmente absorbido o integrado en la matriz. En la Figura 11 también se presentan diversas opciones de revestimiento indicadas anteriormente. Curiosamente, los inventores han descubierto que ciertos revestimientos que funcionan en el ensayo contemplado en la presente memoria tienen baja solubilidad, también denominada baja dispersabilidad en agua. En tales circunstancias, el revestimiento se incluye a menudo en un formato racionado en lugar de simplemente revestir todo el dispositivo. Por ejemplo, tales revestimientos (y reactivos) se incluyen con frecuencia en dispositivos que utilizan una aplicación de estilo de matriz de puntos, colocados en puntos individuales. A menudo, el recubrimiento y el reactivo no están contiguos entre los puntos individuales. Menos ocasionalmente, algunos de los puntos, pero no todos, están interconectados. Las líneas finas son otra opción para emplear recubrimientos que tienen baja dispersabilidad o solubilidad en agua. Por el contrario, si los recubrimientos tienen una dispersabilidad baja a media o alta en agua (o muestra diana de fluido), entonces el revestimiento puede emplearse en cantidades mayores o más libremente dentro de regiones predefinidas del dispositivo.

En ciertas realizaciones, las determinaciones, predicciones y decisiones de la vida útil se realizan usando técnicas conocidas en la especialidad; por ejemplo, las detalladas en Woo et al., "Shelf-Life Prediction Methods and Applications", Med. Plastics & Biomat. Mag. (marzo de 1996).

Con referencia a la Figura 12, esta proporciona una descripción de diversos componentes de una realización de un

dispositivo a modo de ejemplo (10) como se contempla y describe en el presente documento. La zona receptora de la muestra (12), la zona (14) de marcador/almohadilla de marcador, la tira reactiva (16), las zonas (17) de prueba y de control en la región de prueba y la zona absorbente (18) se representan en una capa de soporte (20). Se proporciona una abertura o ventana alineada con la zona receptora (11) de la muestra y la región de prueba (15) en la capa de soporte (20) en la realización representada. En realizaciones frecuentes, la zona (14) de marcador/almohadilla de marcador y la zona absorbente (18) están cubiertas o rodeadas por la capa de soporte (20). Si la capa de soporte (20) es opaca, como suele ocurrir, entonces las porciones del dispositivo no expuestas a través de una abertura o ventana no serían visibles para el usuario del dispositivo. Cada una de la zona receptora de la muestra (12), la almohadilla (14) de marcador, la tira reactiva (16) y la zona absorbente (18) tiene comunicación de fluido. Se representan y se pueden proporcionar opcionalmente múltiples capas de porciones de la zona receptora de la muestra (12) y/o de la zona absorbente (18). En ciertas realizaciones, se proporcionan de 1 a 10 capas de material matricial (o un material matricial con una sección transversal vertical mayor) para la zona receptora de la muestra. Las ventanas o aberturas (11, 15) generalmente tienen fines funcionales. Por ejemplo, la abertura o ventana (11) es un área en la que una muestra puede ser puesta en contacto con la zona receptora de la muestra para iniciar un ensayo. La abertura o ventana (15) es un área en la que se puede ver la región de prueba, por lo que esta abertura o ventana proporciona una comunicación óptica a la región de prueba (o a los resultados de la misma) desde el exterior del dispositivo. En ciertas realizaciones, se proporciona una película dispersable en agua o soluble de otro modo (por ejemplo, gelatina) sobre la abertura o ventana (15) en la capa (20) de carcasa/cubierta para proteger la región de prueba y, opcionalmente, mejorar la legibilidad.

Con referencia a las Figuras 13A, 13B y 13C, estas proporcionan representaciones de diversos componentes de una realización de un dispositivo a modo de ejemplo (10) como se contempla y describe en la presente memoria. La zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16), las zonas de prueba y de control (17) en la región de prueba y la zona absorbente (18) se representan en una capa de soporte (20). Se proporciona una abertura o ventana alineada con la zona receptora de la muestra (20) y la región de prueba (15) en la capa de soporte (20) en la realización representada. En realizaciones frecuentes, la zona absorbente (18) y porciones de la tira reactiva (16) y la zona receptora de la muestra (12) están cubiertas o rodeadas por la capa de soporte (20). Si la capa de soporte (20) es opaca, como suele ocurrir, entonces las porciones del dispositivo no expuestas a través de una abertura o ventana no serían visibles para el usuario del dispositivo. Cada una de la zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16) y la zona absorbente (18) tiene comunicación de fluido. La zona receptora de la muestra (12) en esta realización comprende un material matricial contiguo que se pliega en la parte "R", por ejemplo, para intercalar la tira reactiva (16) entre las capas dobladas. La zona absorbente (18) en esta realización comprende un material matricial contiguo que se pliega en la parte "R", por ejemplo, para intercalar la tira reactiva (16) entre las capas dobladas. Pueden proporcionarse múltiples capas plegadas de material de la zona receptora de la muestra (12) y/o de la zona absorbente (18). En ciertas realizaciones, se proporcionan de 1 a 10 capas de material matricial (o un material matricial con una sección transversal vertical mayor) para la zona receptora de la muestra. Las ventanas o aberturas (11, 15) generalmente tienen fines funcionales. Por ejemplo, la abertura o ventana (11) es un área donde una muestra puede ser puesta en contacto con la zona receptora de la muestra para iniciar un ensayo. La abertura o ventana (15) es un área en la que se puede ver la región de prueba, por lo que esta abertura o ventana proporciona una comunicación óptica a la región de prueba (o a los resultados de la misma) desde el exterior del dispositivo. En ciertas realizaciones, se proporciona una película dispersable en agua o soluble de otro modo (por ejemplo, gelatina) sobre la abertura o ventana (15) en la capa de soporte (20) para proteger la región de prueba y opcionalmente mejorar la legibilidad.

Con referencia a las Figuras 14A, 14B y 14C, estas proporcionan representaciones de diversos componentes de una realización de un dispositivo a modo de ejemplo (10) como se contempla y describe en la presente memoria. La zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16), las zonas de prueba y de control (17) en la región de prueba y la zona absorbente (18) se representan en una capa de soporte (20). Se proporciona una abertura o ventana alineada con la zona receptora (11) de la muestra y la región de prueba (15) en la capa de soporte (20) en la realización representada. En realizaciones frecuentes, la zona absorbente (18) y porciones de la tira reactiva (16) y la zona receptora de la muestra (12) están cubiertas o rodeadas por la capa de soporte (20). Si la capa de soporte (20) es opaca, como suele ocurrir, entonces las porciones del dispositivo no expuestas a través de una abertura o ventana no serían visibles para el usuario del dispositivo. Cada una de la zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16) y la zona absorbente (18) tiene comunicación de fluido. En la realización representada, la zona receptora de la muestra (12) y la tira reactiva (16) están formadas del mismo material contiguo, sin contacto superpuesto de diferentes componentes para proporcionar una comunicación de fluido entre las mismas. La zona receptora de la muestra (12) en esta realización comprende un material matricial contiguo que se pliega en la parte "R". La zona absorbente (18) en esta realización comprende un material matricial contiguo que se pliega en la parte "R"; por ejemplo, para intercalar la tira reactiva (16) entre las capas dobladas. Pueden proporcionarse múltiples capas plegadas de material de la zona receptora de la muestra (12) y/o de la zona absorbente (18). En ciertas realizaciones, se proporcionan de 1 a 10 capas de material matricial (o un material matricial con una sección transversal vertical mayor) para la zona receptora de la muestra. Las ventanas o aberturas (11, 15) generalmente tienen fines funcionales. Por ejemplo, la abertura o ventana (11) es un área en la que una muestra puede ser puesta en contacto con la zona receptora de la muestra para iniciar un ensayo. La abertura o ventana (15) es un área en la que se puede ver la región de prueba, por lo que esta abertura o ventana proporciona una comunicación óptica a la región de prueba (o a los resultados de la misma) desde el exterior del dispositivo. En ciertas realizaciones, se proporciona una película dispersable en agua o soluble de otro modo (por ejemplo, gelatina) sobre la abertura o ventana (15) en la capa de soporte (20) para proteger la región de prueba y

opcionalmente mejorar la legibilidad.

Con referencia a las Figuras 15A y 15B, estas proporcionan representaciones de diversos componentes de una realización de un dispositivo a modo de ejemplo (10) como se contempla y describe en la presente memoria. La zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16), las zonas de prueba y de control (17) en la región de prueba y la zona absorbente (18) se representan en una capa de soporte (20). Se proporciona una abertura o ventana alineada con la zona receptora (11) de la muestra y la región de prueba (15) en la capa de soporte (20) en la realización representada. En realizaciones frecuentes, la zona absorbente (18) y porciones de la tira reactiva (16) y la zona receptora de la muestra (12) están cubiertas o rodeadas por la capa de soporte (20). Si la capa de soporte (20) es opaca, como suele ocurrir, entonces las partes del dispositivo no expuestas a través de una abertura o ventana no serían visibles para el usuario del dispositivo. Cada una de la zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16) y la zona absorbente (18) tiene comunicación de fluido. En la realización representada, la zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16) y la zona absorbente (18) están formadas del mismo material contiguo, sin contacto superpuesto de diferentes componentes para proporcionar comunicación de fluido entre las mismas. La zona receptora de la muestra (12) en esta realización comprende un material de matriz contiguo que se pliega en la parte "R". De manera similar, la zona absorbente (18) en esta realización comprende un material matricial contiguo que se pliega en la parte "R". Pueden proporcionarse múltiples capas plegadas de material de la zona receptora de la muestra (12) y/o de la zona absorbente (18). En ciertas realizaciones, se proporcionan de 1 a 10 capas de material matricial (o un material matricial con una sección transversal vertical mayor) para la zona receptora de la muestra. Las ventanas o aberturas (11, 15) generalmente tienen fines funcionales. Por ejemplo, la abertura o ventana (11) es un área en la que una muestra puede ser puesta en contacto con la zona receptora de la muestra para iniciar un ensayo. La abertura o ventana (15) es un área en la que se puede ver la región de prueba, por lo que esta abertura o ventana proporciona una comunicación óptica a la región de prueba (o a los resultados de la misma) desde el exterior del dispositivo. En ciertas realizaciones, se proporciona una película dispersable en agua o soluble de otro modo (por ejemplo, gelatina) sobre la abertura o ventana (15) en la capa de soporte (20) para proteger la región de prueba y opcionalmente mejorar la legibilidad.

Con referencia a las Figuras 16A y 16B, estas proporcionan representaciones de diversos componentes de una realización de un dispositivo a modo de ejemplo (10) como se contempla y describe en la presente memoria. La zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16), las zonas de prueba y control (17) en la región de prueba y la zona absorbente (18) se representan en una capa de soporte (20). Se proporciona una abertura o ventana alineada con la zona receptora (11) de la muestra y la región de prueba (15) en la capa de soporte (20) en la realización representada. En realizaciones frecuentes, la zona absorbente (18) y porciones de la tira reactiva (16) y la zona receptora de la muestra (12) están cubiertas o rodeadas por la capa de soporte (20). Si la capa de soporte (20) es opaca, como suele ocurrir, entonces las porciones del dispositivo no expuestas a través de una abertura o ventana no serían visibles para el usuario del dispositivo. Cada una de la zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16) y la zona absorbente (18) tiene comunicación de fluido. En la realización representada, la zona receptora de la muestra (12), la tira reactiva (16) y la zona absorbente (18) están formadas del mismo material contiguo, sin contacto superpuesto de diferentes componentes para proporcionar comunicación de fluido entre las mismas. Pueden proporcionarse múltiples capas de material de la zona receptora de la muestra (12) y/o de la zona absorbente (18). En determinadas realizaciones, se proporcionan de 1 a 10 capas de material matricial (o un material matricial con una sección transversal vertical mayor) para la zona receptora de la muestra. Las ventanas o aberturas (11, 15) generalmente tienen fines funcionales. Por ejemplo, la abertura o ventana (11) es un área en la que una muestra puede ser puesta en contacto con la zona receptora de la muestra para iniciar un ensayo. La abertura o ventana (15) es un área en la que se puede ver la región de prueba, por lo que esta abertura o ventana proporciona una comunicación óptica a la región de prueba (o a los resultados de la misma) desde el exterior del dispositivo. En ciertas realizaciones, se proporciona una película dispersable en agua o soluble de otro modo (por ejemplo, gelatina) sobre la abertura o ventana (15) en la capa de soporte (20) para proteger la región de prueba y opcionalmente mejorar la legibilidad.

Con referencia a las Figuras 17A, 17B y 17C, estas proporcionan representaciones de diversos dispositivos a modo de ejemplo (10) como se contempla y describe en la presente memoria. Aunque no están etiquetados, se pueden determinar aspectos similares de estos dispositivos con referencia, por ejemplo, a las Figuras 12-16. La zona absorbente de la Figura 17A se muestra envuelta alrededor de la parte de la tira reactiva, que representa una disposición a modo de ejemplo de la zona absorbente para cualquier realización descrita en la presente memoria. Dado que el material matricial es a menudo un material de tipo absorbente, una orientación física de un material absorbente que se extiende en dirección horizontal o vertical alrededor de la tira reactiva o en relación con la misma a menudo contribuye a la absorbancia o a la absorción de la muestra en la zona absorbente que ha pasado a través de la zona de prueba. Como también puede verse en la Figura 17A (además de otras figuras proporcionadas en este documento), la zona de muestra puede configurarse para proporcionar una parte estrecha que conduce a la tira reactiva para confinar o concentrar o hacer que el líquido fluya en el material matricial desde la zona de muestra a la tira reactiva o zona de prueba. Con respecto también a la Figura 17A, la zona de prueba puede incluir porciones estrechas de material matricial para las zonas de prueba y/o control, que a menudo contribuyen a proporcionar un resultado muy distinguible visualmente (visibilidad de la línea de prueba o control).

Con respecto a la Figura 17C, se resaltan con una flecha de puntos los aspectos W y W'. Estas porciones se refieren al ancho del dispositivo (y de otros dispositivos a modo de ejemplo descritos en la presente memoria), que en

realizaciones frecuentes a menudo se selecciona para que sea más estrecho que el sifón de un inodoro estándar. En esta realización también se representa la porción elevada/de entrada de aire (21), que permite la entrada de aire y/o el acomodo de una tira reactiva con el soporte. Aunque no se muestra en otras realizaciones, la porción elevada (21) puede proporcionarse en otras realizaciones descritas en este documento. Con más referencia a los aspectos W y W', cualquiera de estos aspectos o ambos, la mayoría de las veces miden menos de ca. 7,6 cm. En ciertas realizaciones, W y W' miden entre aproximadamente ca. 5,1 cm hasta aproximadamente 10,2 cm, o aproximadamente ca. 5,1 cm, ca. 5,3 cm, ca. 5,5 cm, ca. 5,6 cm, ca. 5,8 cm, ca. 6,1 cm, ca. 6,4 cm, ca. 6,6 cm, ca. 6,9 cm, ca. 7,1 cm o ca. 7,4 cm. Perpendicularmente a los aspectos W y W', la longitud del dispositivo (soporte incluido) puede variar. Las longitudes a modo de ejemplo del dispositivo pueden variar, por ejemplo, entre ca. 10,2 cm hasta aproximadamente 30,5 cm. En ciertas realizaciones, la longitud del dispositivo está entre ca. 12,7 cm y ca. 17,8 cm. En ciertas realizaciones, la longitud del dispositivo es de aproximadamente 15,2 cm o ca. 15,6 cm.

Con referencia a la Figura 18, esta proporciona una imagen de otro dispositivo a modo de ejemplo (10) como se contempla y describe en la presente memoria. Aunque no están etiquetados, se pueden determinar aspectos similares de estos dispositivos con referencia, por ejemplo, a las Figuras 12-17. El dispositivo representado en la Figura 18 incorpora además recortes y hendiduras (22) en el soporte, que mejoran la capacidad del dispositivo para hundirse y/o ser fácilmente desechable en un inodoro. Sin entrar en consideraciones teóricas particulares, los recortes y hendiduras (22) proporcionan un mayor acceso de un líquido a la estructura matricial interna, y reducen las tensiones superficiales del líquido cuando el dispositivo entra en contacto con un cuerpo de líquido, como el agua en un inodoro. Tales recortes y hendiduras (22) pueden incorporarse en los diversos dispositivos contemplados en la presente memoria para contribuir a la eliminación y la desechabilidad de estos dispositivos.

Con referencia a las Figuras 19A y 19B, estas proporcionan una realización de los presentes dispositivos que utilizan un soporte no tejido que comprende, por ejemplo, gelatina o colágeno. Esta realización también puede proporcionarse o denominarse chip microfluídico dispersable en agua. Se proporciona un canal (25) de diagnóstico en un soporte (24) de gelatina o colágeno, formado por una pared (26) de gelatina o colágeno que opcionalmente puede ser tratada hidrófobamente, o revestida con un material matricial (27) que opcionalmente es tratado hidrófobamente. El canal a modo de ejemplo (25) de diagnóstico incluye una tira reactiva no tejida, que incluye zonas (17) de prueba y control. Tal tratamiento hidrófobo es a menudo solo un tratamiento hidrófobo temporal, como se contempla en la presente memoria, de manera que la humedad o un líquido acaben penetrando en el material para su disolución o dispersión. El soporte no tejido se puede utilizar como soporte por sí solo o junto con otros componentes, tales como materiales de soporte compuestos de material matricial, como se describe en el presente documento. El canal de diagnóstico, aunque se muestra que tiene una curva, es meramente a modo de ejemplo con respecto a las múltiples configuraciones de tales canales que se contemplan. El canal de diagnóstico puede ser un canal microfluídico que contenga un material matricial contemplado en la presente memoria. El canal de diagnóstico se proporcionará generalmente en comunicación de fluido con una zona de muestra (no representada) y/o una zona absorbente (no representada). En un proceso de fabricación a modo de ejemplo, la gelatina se puede verter en un molde. El material de matriz tratado hidrófobamente, como HYDRASPUN®, se prensa o se coloca en las cavidades del molde. La tira reactiva se coloca luego sobre el material matricial hidrófobo tratado. El canal de diagnóstico se cubre entonces opcionalmente con una capa adicional de gelatina que opcionalmente tiene una abertura para un punto de entrada de la muestra. Los bordes o el perímetro se sellan entonces opcionalmente con un adhesivo sensible a la presión soluble en agua.

Con respecto a las opciones de barreras hidrófobas contempladas en el presente documento, el material matricial puede, en ciertas realizaciones, estar laminado con MonoSol de agua fría o MonoSol de agua caliente. El material matricial también se puede tratar en ciertas realizaciones con una alta concentración de almidón para mejorar la rigidez y la resiliencia temporal a los líquidos. El material matricial también se puede revestir en ciertas realizaciones con ProGel (coloración típica o la variedad blanca tratada con dióxido de titanio) y se puede proporcionar una barrera adicional, por ejemplo, debajo de la zona de muestra usando cera de soja. El material matricial también se puede tratar en ciertas realizaciones usando almidón + agua desionizada + solución hidrófoba (por ejemplo, DRYWIRED® Textile Shield; Drywired, LLC). La matriz también se puede tratar en ciertas realizaciones usando almidón + agua desionizada + dióxido de silicio. La matriz también se puede tratar en ciertas realizaciones usando almidón + solución hidrófoba (por ejemplo, DRYWIRED® Textile Shield). En ciertas realizaciones, la matriz también puede tratarse usando otra solución de nanopartículas hidrófobas.

Se aborda aquí la cuestión del cumplimiento de las directrices de desechabilidad para los presentes dispositivos. Se ha encontrado que los materiales disponibles comercialmente no son particularmente propicios para satisfacer estas directrices, ya que se encontraron y superaron una serie de problemas. Por ejemplo, como se ha indicado, con el uso de un proceso de laminación para combinar múltiples capas de material matricial para asegurar la dispersión del dispositivo en agua, los materiales más gruesos no se disgregarían tan fácilmente. El uso de una estampación con relieve o la inclusión de recortes y/o hendiduras adapta el área superficial y la tensión superficial del dispositivo en líquido. La reducción de la anchura de los salientes ha mejorado la desechabilidad, además de reducir la cantidad de material y el tamaño del dispositivo. También puede emplearse el ajuste de la solución hidrófoba para permitir la absorción de líquido en un tiempo predeterminado, añadir un elemento ponderado al dispositivo e incluir una ventana de gelatina en el dispositivo.

Los dispositivos descritos en la presente memoria han superado diversos retos de rendimiento del ensayo utilizando las innovaciones descritas en el presente documento. Por ejemplo, como se expuso, los reactivos de anticuerpos a menudo se rayan en el material matricial en una dirección que es perpendicular a la dirección de la máquina/del chorro de agua del material matricial no tejido. En realizaciones frecuentes, no se utiliza una almohadilla de marcador separada o diferenciada. Antes bien, los reactivos conjugados se proporcionan o rayan en la zona de muestra. Esto a menudo se realiza en alineación con la dirección de la máquina/del chorro de agua después de que la zona de muestra se trata con tampones y se seca. A menudo se incluyen perlas de látex para mejorar la señal de prueba. La consecución de líneas de prueba y/o de control muy adheridas en los materiales matriciales contemplados en el presente documento también se puede obtener usando un tratamiento de pH (por ejemplo, choque por pH bajo) de los anticuerpos. En ciertas realizaciones, el rayado de reactivos se proporciona sobre un material matricial que ha sido tratado con una solución hidrófoba como HYDRASPUN®. También se puede emplear la tira reactiva en una configuración estrecha, que es lo opuesto a los ensayos convencionales (por ejemplo, 3 mm frente a 5 mm), para mejorar (por ejemplo, reducir) el periodo de tiempo para los resultados. Teniendo en cuenta los materiales no tejidos contemplados en la presente memoria, se ha demostrado que tal estrechamiento proporciona un efecto mejorado.

Algunas porciones de la descripción definida anteriormente pueden permitir las siguientes mejoras no inclusivas de los componentes del dispositivo de flujo lateral y de flujo continuo, incluidas las carcasas para los mismos. Ciertos dibujos representan configuraciones meramente a modo de ejemplo y posibles aplicaciones que utilizan revestimientos y tratamientos superficiales para crear barreras hidrófobas temporales para la estabilidad y/o en lugar de los métodos tradicionales de ensayo de flujo lateral y flujo continuo. Los tratamientos y revestimientos de materiales se pueden aplicar en forma sólida (película), líquida o de gel a través de diversas técnicas, que incluyen distribuidores de solenoide accionados por bomba sin contacto, distribuidores de punta de contacto, impresión por chorro de tinta, revestimiento por pulverización y aplicaciones de rodillo a rodillo. Este tratamiento o revestimiento se puede usar de una, muchas o una combinación de formas, tales como:

- Un revestimiento (superior) final o encapsulación actúa como sellante
- Un revestimiento preliminar (base) antes de la aplicación de analitos
- Un revestimiento tanto preliminar como final
- Una mezcla (mezclada con el analito) y colocada
- Un tratamiento del propio sustrato material/de la propia matriz

El método para la creación de un dispositivo de flujo lateral o de flujo pasante dispersable o soluble en agua puede incluir algunos, la totalidad o cualquier combinación de los siguientes:

- Uso de matrices/sustratos dispersables o solubles en agua, tales como celulosa no tejida
  - Combinar algunos/la totalidad de los componentes
  - Dispersar en agua
  - Contribuir al flujo de la muestra/mejorar la velocidad de absorción
- Revestimientos o tratamientos para mejorar diversos aspectos del rendimiento del ensayo o para controlar/ajustar la hidrofobia de los materiales, tales como:
  - Inmovilización de reactivos
  - Bioactividad y vida útil
    - Por ejemplo, sustitución de cubierta laminada
  - Liberación de conjugado
  - Modificación de la superficie
    - Por ejemplo, superficie más lisa
    - Por ejemplo, contribuir al flujo de la muestra
  - Creación de paredes de canal o barreras
  - Desecante
  - Tratamiento o laminación de la superficie para la hidrofobia
  - Recogida/modificación de la muestra
    - Por ejemplo, ajustar el pH
- Modificación de conjugado por cambio en el tamaño o uso de materiales alternativos
  - Mejorar la claridad de la lectura
  - Mejorar la sensibilidad/especificidad
  - Rentabilidad
  - Permitir una total dispersabilidad en el agua

Ocasionalmente también se usan otros tratamientos o reactivos de ensayo, tales como:

- Soluciones de sacarosa
- Soluciones de trehalosa (por ejemplo, Yetisen et al., Lab on a Chip 12 (2013): 2210-2251, 2240)
- 5 • Medio LB y estabilizante de revestimiento de sacarosa
- Tampón de bloqueo y estabilizante de revestimiento
- Tratamiento con ácidos
- Partículas de látex
- Nanoperlas de celulosa
- 10 • A menudo también se escoge un revestimiento para proporcionar una tasa predeterminada de disolución en función del material matricial del analito de interés.

A menudo también se formulan recubrimientos y tratamientos para características de rendimiento específicas, tales como tasa de disolución, viscosidad, grosor de capa y porosidad, en función de la aplicación deseada. Por ejemplo, a menudo se elige un revestimiento en función de su unión, adherencia o integración dentro del material matricial. A menudo también se elige un revestimiento para proporcionar una tasa de disolución predeterminada en función del analito de interés, del tipo de usuario, de la sensibilidad deseada de identificación del analito, entre otras razones.

Se proporcionan ciertas ventajas con los materiales, los métodos y los dispositivos descritos en la presente memoria. En particular, el dispositivo (es decir, el ensayo/la tira reactiva/el dispositivo de prueba) es dispersable o soluble en agua. Lo más frecuente es que el dispositivo se biodegrade. Se necesitan menos componentes y menos materiales para fabricar y utilizar funcionalmente el dispositivo de acuerdo con cualquier ensayo deseado, lo que permite la integración de componentes y facilita las complejidades de fabricación. Los materiales contemplados en el presente documento también proporcionan una opción para un ensayo más rápido que el disponible actualmente. Ahora se pueden habilitar más fácilmente la multiplexación y/o las pruebas cuantitativas usando los dispositivos contemplados en este documento. En particular, los dispositivos descritos en la presente memoria proporcionan el diseño y la implementación de múltiples vías o canales de flujo en un solo dispositivo. Por ello, la misma muestra puede ser analizada simultáneamente para detectar la presencia de múltiples analitos. Por ejemplo, cada uno de los múltiples canales se puede adaptar para comprobar un nivel específico de hCG, que puede diferir entre los canales. Además, dado que se proporcionan dispositivos de flujo lateral más grandes que los típicos, el espacio adicional proporcionado en el dispositivo puede permitir evaluar múltiples niveles de hCG en un solo canal o múltiples analitos diferentes en un solo canal o diferentes canales. En ciertas realizaciones, el dispositivo está dotado de múltiples canales, proporcionándose dos o más de los canales para evaluar el mismo analito (por ejemplo, hCG) en el mismo nivel.

La presente divulgación proporciona un dispositivo de prueba, particularmente dispositivos de inmunoensayo, para determinar la presencia o ausencia de múltiples analitos en una muestra líquida. En general, un dispositivo de prueba de la presente divulgación incluye una matriz que define una vía de flujo. Normalmente, la matriz incluye además una zona receptora de la muestra, una zona de marcador, una zona de prueba y una zona de control. En realizaciones frecuentes, una región de prueba comprende las zonas de prueba y de control. En una realización relacionada, la matriz incluye además una zona absorbente dispuesta corriente abajo de la región de prueba. Además, en realizaciones preferidas, la región de prueba, que comprende las zonas de prueba y de control, es observable. En realizaciones frecuentes, una o más de estas zonas comprenden una matriz dispersable o soluble en agua. En las realizaciones más frecuentes, dos o más de estas zonas comprenden una matriz dispersable o soluble en agua. A menudo, todo el dispositivo comprende una matriz dispersable o soluble en agua, que suele ser una matriz contigua dispersable o soluble en agua. En ciertas realizaciones frecuentes, la zona de marcador comprende un inserto provisto en una vía de flujo de ensayo comprendida en una matriz dispersable o soluble en agua.

Se eligió el WDMSM como el material que había de investigarse para el desarrollo de un dispositivo a modo de ejemplo. Se obtuvo de Kestrel Biosciences un kit de prueba de reactivo hCG para investigar las propiedades de unión de anticuerpos del WDMSM. Se realizó una prueba de sensibilidad de anticuerpos para evaluar los anticuerpos que recubren las fibras del material WDMSM. Luego se realizó una prueba de flujo lateral para evaluar el flujo del reactivo del conjugado de oro (conjugado líquido) a través del material WDMSM y los resultados positivos en las zonas de captura de anticuerpos. Se realizó el secado inicial del conjugado de oro al material para evaluar el WDMSM como la sección de la almohadilla de conjugado del dispositivo de flujo lateral.

Las pruebas de sensibilidad mostraron resultados intensamente positivos para el control del kit Kestrel. El anticuerpo de captura de cabra antirratón se secó sobre material WDMSM. A continuación, se introdujo el conjugado de oro para determinar si el anticuerpo de captura estaba unido al WDMSM y fue capaz de detectar el anticuerpo de ratón conjugado con las partículas de oro. Estas pruebas mostraron que los anticuerpos se adhieren uniformemente al WDMSM cuando se secan y los anticuerpos permanecen funcionales. La prueba de flujo lateral se realizó con el control del kit Kestrel en el WDMSM. Estas pruebas demostraron que el conjugado de oro podía fluir a través del WDMSM. Además, el anticuerpo de captura pudo adherirse a las partículas de oro cuando las partículas de oro fluyeron por la zona del anticuerpo de captura. A continuación, se realizó la prueba de flujo lateral con el control del kit Kestrel usando el WDMSM, donde el anticuerpo de captura se concentró en una pequeña área de material. Estas pruebas demostraron que el conjugado de oro podía fluir a través de secciones contiguas y conectadas de WDMSM.

Además, el anticuerpo de captura pudo adherirse a las partículas de oro cuando las partículas de oro fluyeron por la zona del anticuerpo de captura. Las pruebas arrojaron resultados positivos.

5 Prueba de flujo lateral con el ensayo de hCG de Kestrel y kit control. Los anticuerpos de captura anti-hCG de cabra se secaron sobre trocitos de WDMSM y la prueba fue positiva. Los anticuerpos de captura de cabra antirratón se secaron sobre trocitos de WDMSM y la prueba también fue positiva. Los trozos de WDMSM recubiertos con anticuerpo de captura se unieron en secuencia con trozos de WDMSM más grandes que actuaron como zona receptora de la muestra y zona absorbente para simular un diseño tradicional de un dispositivo de flujo lateral. Las muestras que incluían el control positivo de hCG mostraron que la zona de anticuerpos de captura de hCG se volvió positiva. Esto  
10 demuestra que los anticuerpos son funcionales.

A continuación, se probó el rendimiento de los anticuerpos secos (sobre WDMSM) usando las siguientes composiciones o formulaciones:

- 15 • Conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115) mezclado con sacarosa al 5 % y trehalosa al 5 %
- Solución de sacarosa al 5 % y de trehalosa al 5 %, seguida por la adición del conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115)
- Conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115) seguido por la adición de la solución de sacarosa al 5 % y de trehalosa al 5 %
- 20 • Conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115) mezclado con sacarosa al 10 %
- Sacarosa al 10 % seguido por la adición del conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115)
- Conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115) seguido por la adición de sacarosa al 10 %
- Conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115) mezclado con sacarosa al 20 %
- Sacarosa al 20 % seguido por la adición del conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115)
- 25 • Conjugado de oro (Kestrel, OD 10, 6 ug/ml, lote 033115) seguido por la adición de sacarosa al 20 %

Cada uno de los reactivos se secó en un dispositivo de prueba que comprendía WDMSM antes de realizar pruebas adicionales. Se añadió agua al dispositivo para movilizar los reactivos.

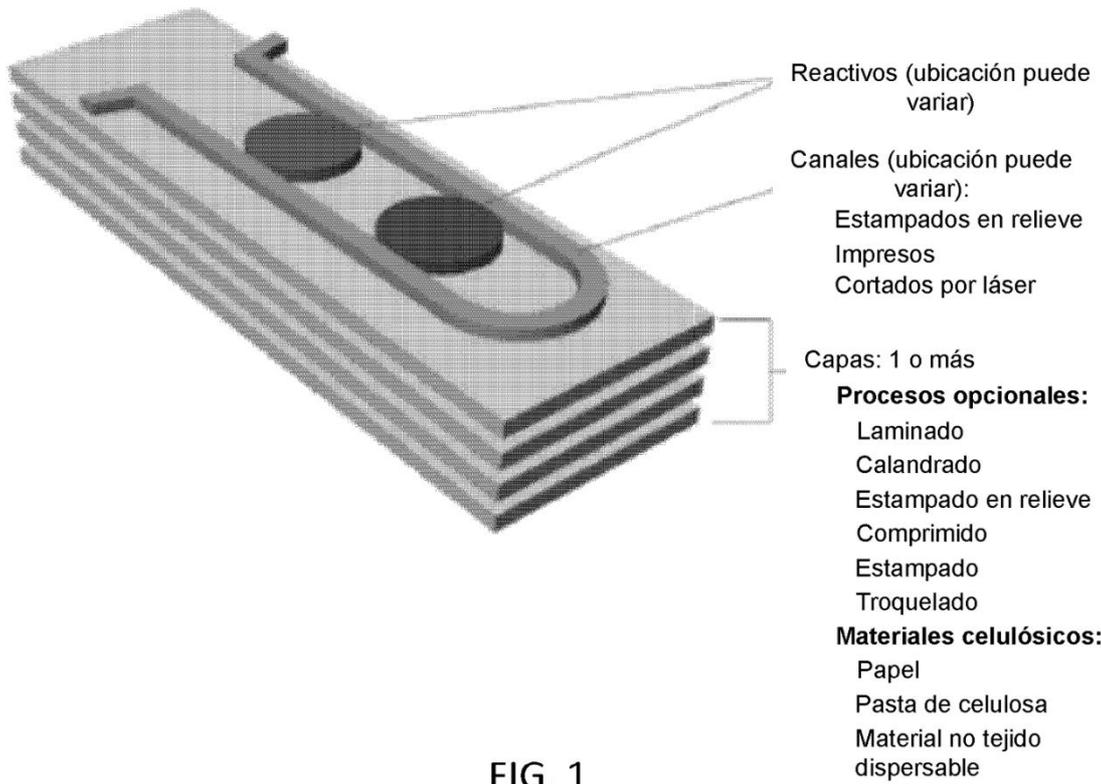
30 Se descubrió que en el dispositivo de prueba se libera más conjugado de oro con sacarosa al 20 % que conjugado de oro con sacarosa al 10 % o con sacarosa al 5 % y trehalosa al 5 %. También se descubrió que al menos algunos de los anticuerpos en el conjugado de oro conservan su forma y funcionalidad después de secarse con sacarosa al 20 %. El anticuerpo de cabra antirratón fue capaz de detectar los anticuerpos de ratón conjugados con las partículas de oro en el conjugado de oro secado con sacarosa al 20 %. La muestra de control negativo no capturó ningún conjugado de  
35 oro liberado. El WDMSM por sí solo no captura el conjugado de oro liberado. El cambio de color en el WDMSM recubierto muestra que los anticuerpos de cabra antirratón se unen al WDMSM y capturan el conjugado de oro a medida que fluye a través del dispositivo. Este experimento demuestra, por ejemplo, la funcionalidad del conjugado de oro secado con azúcar. Se podrían incorporar perlas de látex o nanopartículas de celulosa en lugar del material marcador de oro y además del mismo.

40 Los ejemplos anteriores se incluyen solo con fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la divulgación. Son posibles muchas variaciones de los métodos, los sistemas y los dispositivos descritos anteriormente. Dado que las modificaciones y las variaciones de los ejemplos descritos anteriormente serán evidentes para los expertos en esta técnica, se pretende que esta invención esté limitada únicamente por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

45 Un experto en la materia apreciará características y ventajas adicionales de los métodos, los sistemas y los dispositivos descritos en el presente documento en función de las realizaciones descritas anteriormente. Por consiguiente, los métodos, los sistemas y los dispositivos descritos en la presente memoria no deben estar limitados por lo que se ha mostrado y descrito en particular, excepto en lo indicado por las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un dispositivo de diagnóstico que comprende una tira reactiva (16) encerrada dentro de un soporte (20), en donde la tira reactiva (16) y el soporte (20) comprenden cada uno un material matricial dispersable en agua, **caracterizado por que** el material matricial dispersable en agua es un material no tejido de banda; y el soporte (20) está tratado con un revestimiento hidrófobo.
- 10 2. El dispositivo de diagnóstico de la reivindicación 1 en donde la tira reactiva (16) comprende una zona de prueba (17) y está en comunicación de fluido con una zona de muestra (12) y una zona absorbente (18), en donde la zona de muestra (12) y la zona absorbente (18) se componen de un material dispersable en agua.
- 15 3. El dispositivo de diagnóstico de la reivindicación 1 en donde el soporte (20) comprende una o más hendiduras (22) o uno o más recortes (22) a través del material matricial para potenciar la humectabilidad, en donde la una o más hendiduras (22) o el uno o más recortes (22) proporcionan mayor acceso de un líquido a una estructura matricial interna y reduce las tensiones superficiales del líquido cuando el dispositivo entra en contacto con un cuerpo de líquido.
4. El dispositivo de diagnóstico de la reivindicación 1 en donde el soporte (20) comprende una porción en relieve.
- 20 5. El dispositivo de diagnóstico de la reivindicación 1, en donde se proporciona una porción elevada de entrada de aire (21) en el soporte (20).
- 25 6. El dispositivo de diagnóstico de la reivindicación 1, en donde un reactivo de anticuerpos que comprende un azúcar que comprende trehalosa y sacarosa y un anticuerpo se depositan de forma liberable sobre la tira reactiva (16), en donde el anticuerpo es específico para un analito.
7. El dispositivo de diagnóstico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde la tira reactiva (16) está configurada para detectar un analito que comprende gonadotropina coriónica humana (hCG).



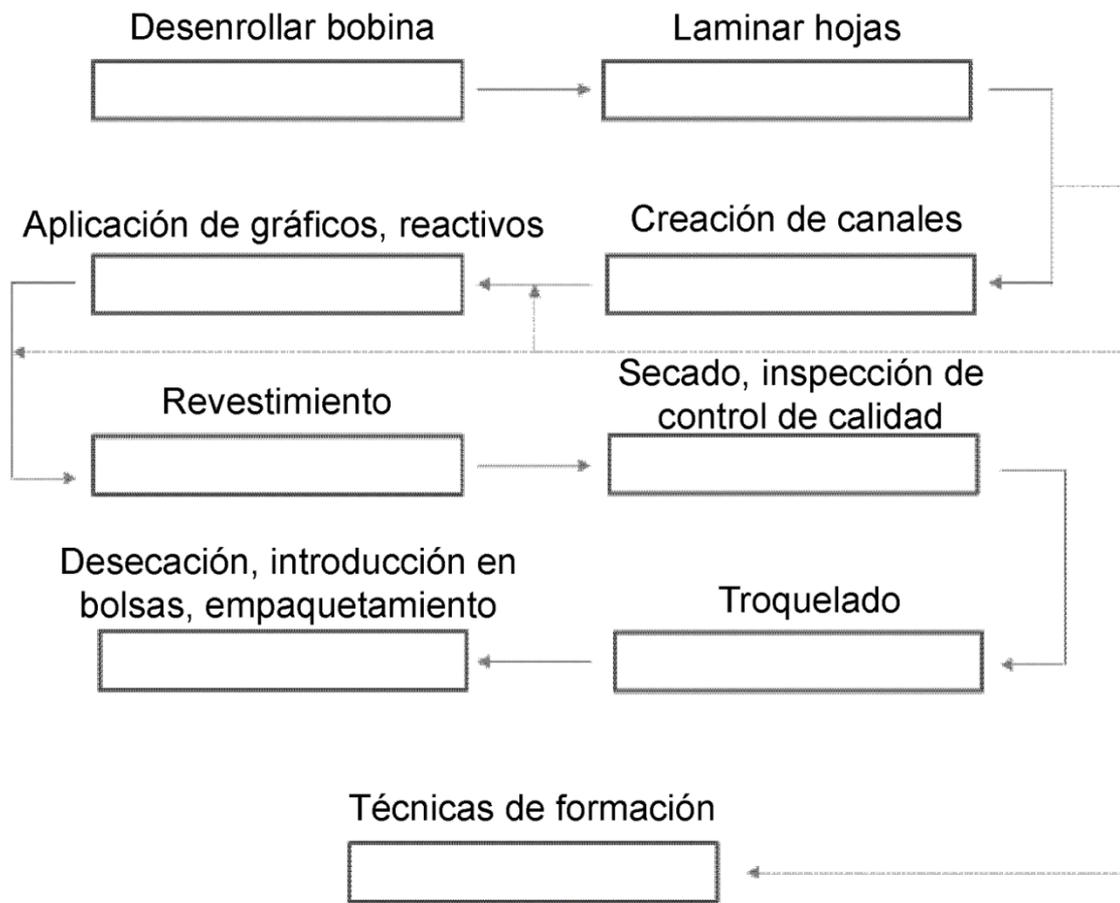


FIG. 2

FIG. 3A

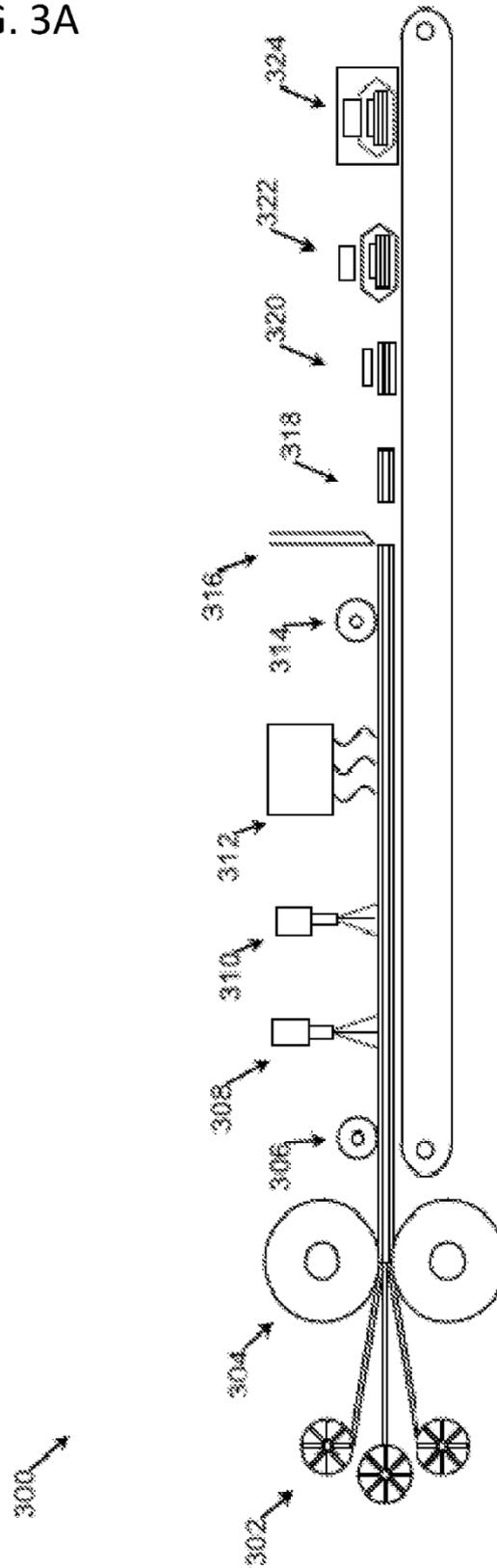
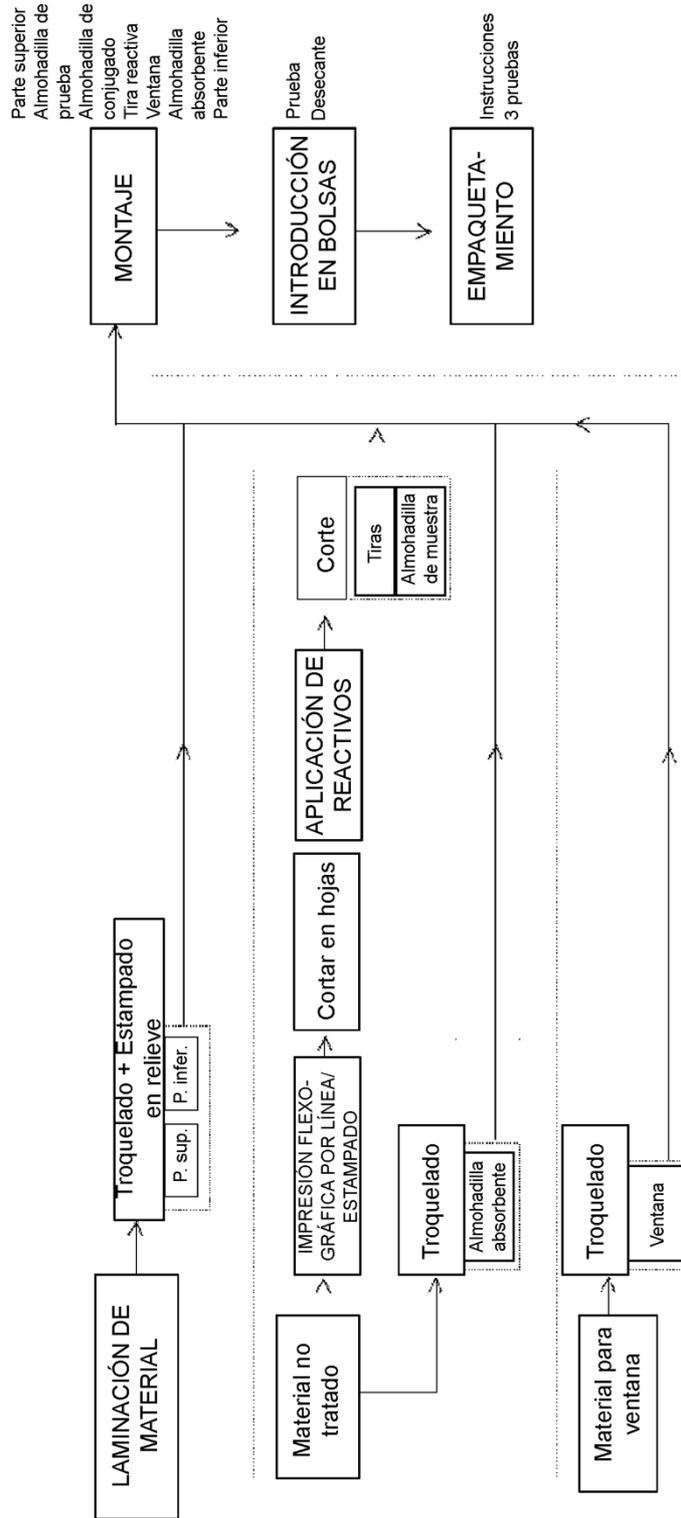
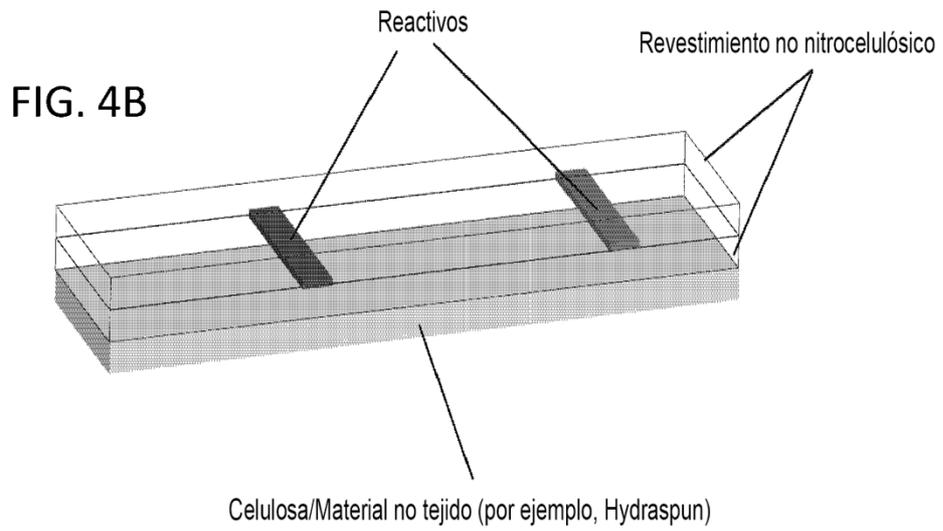
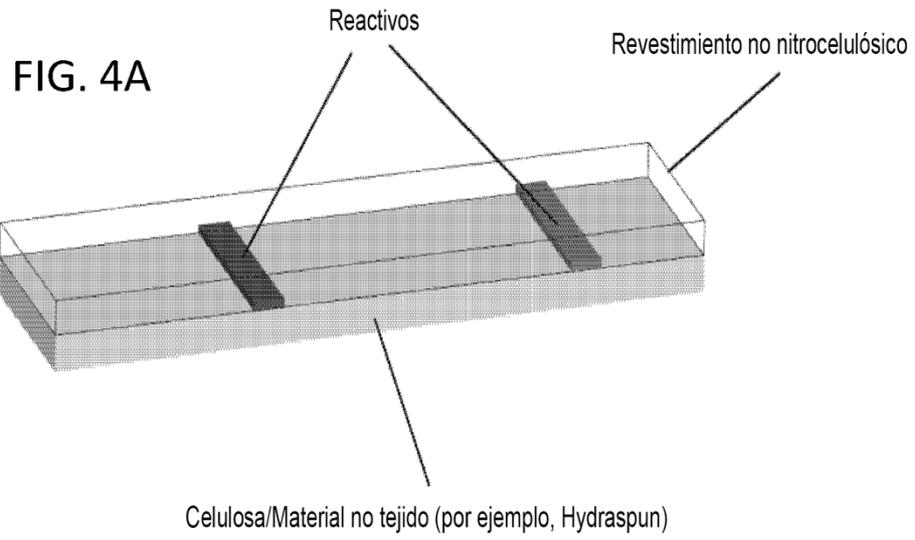
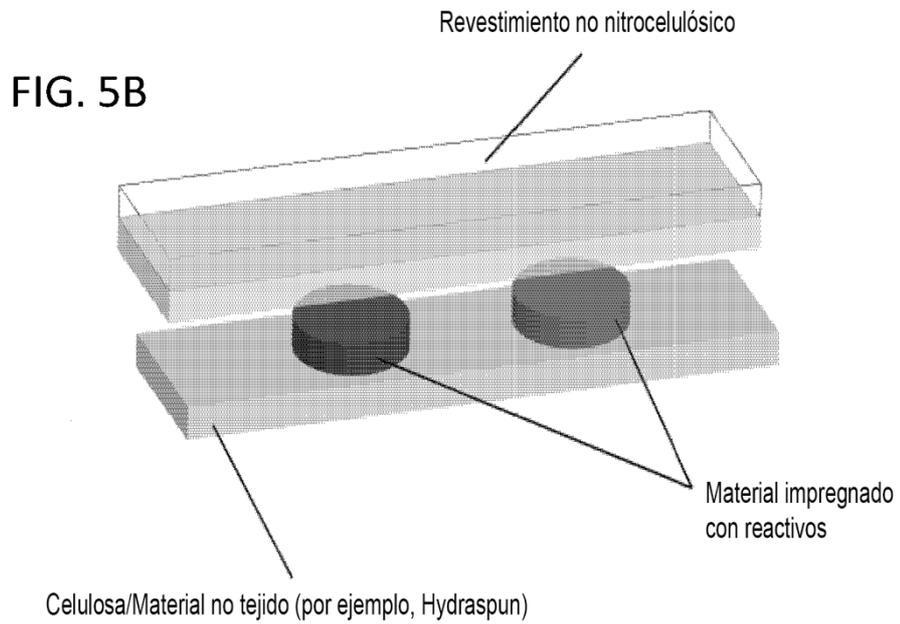
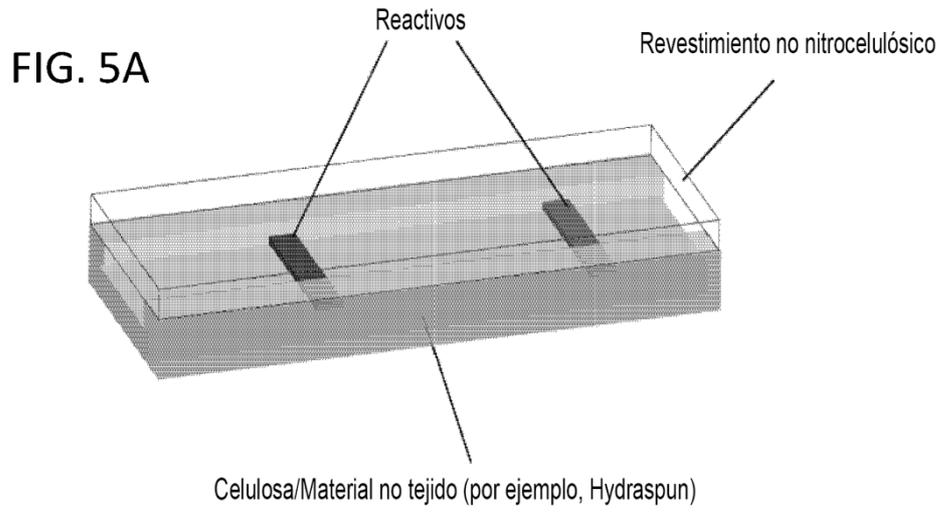


FIG. 3B







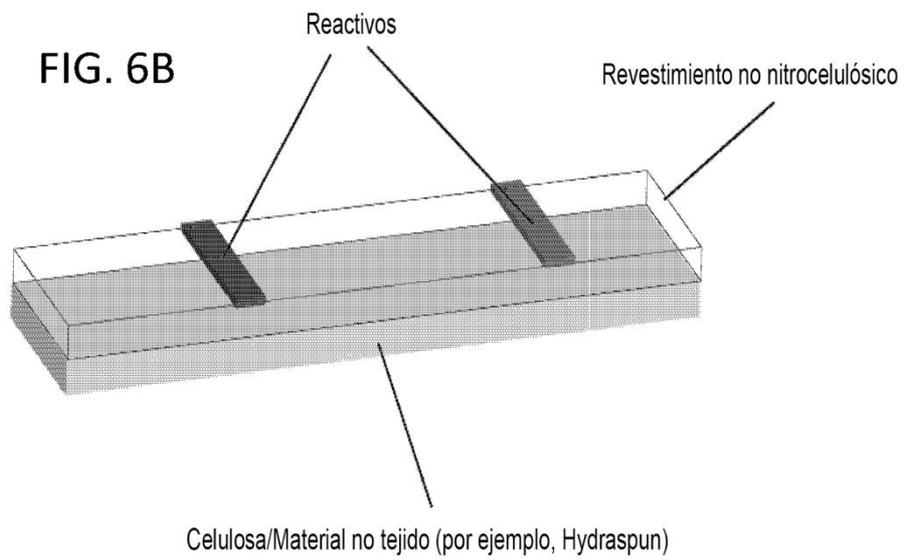
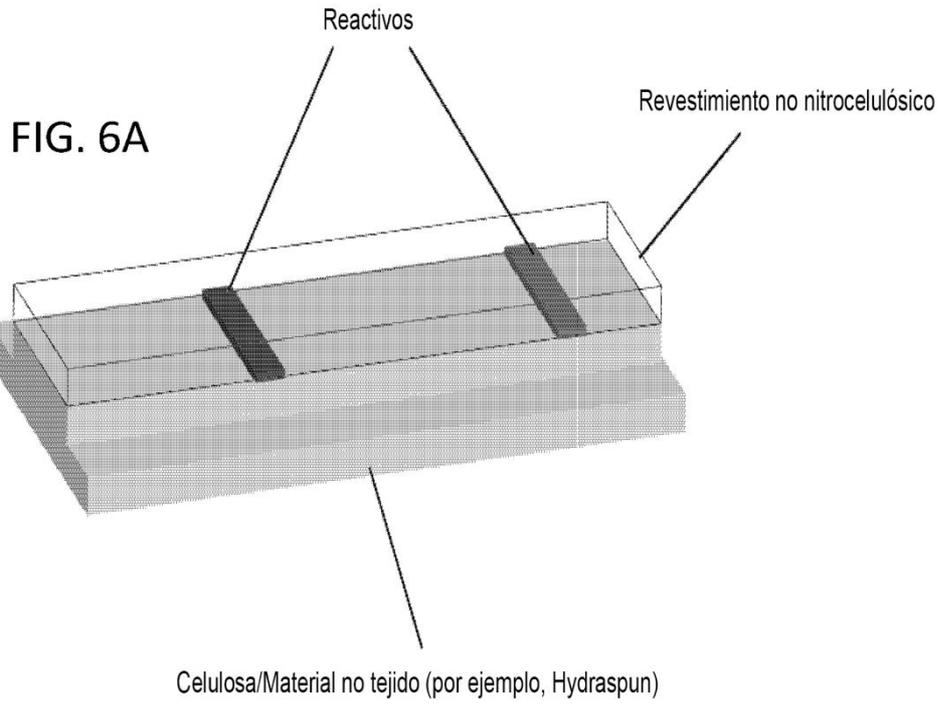


FIG. 7

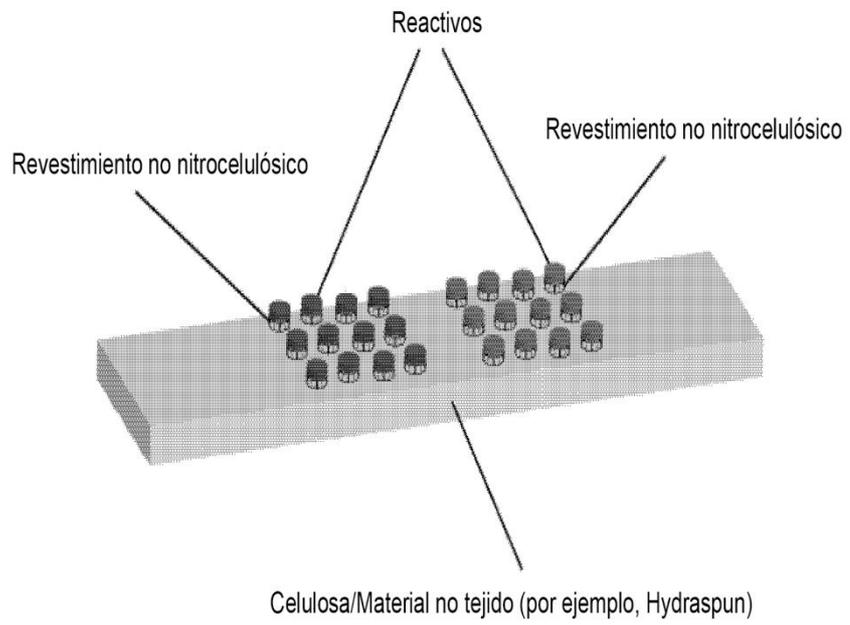


FIG. 8

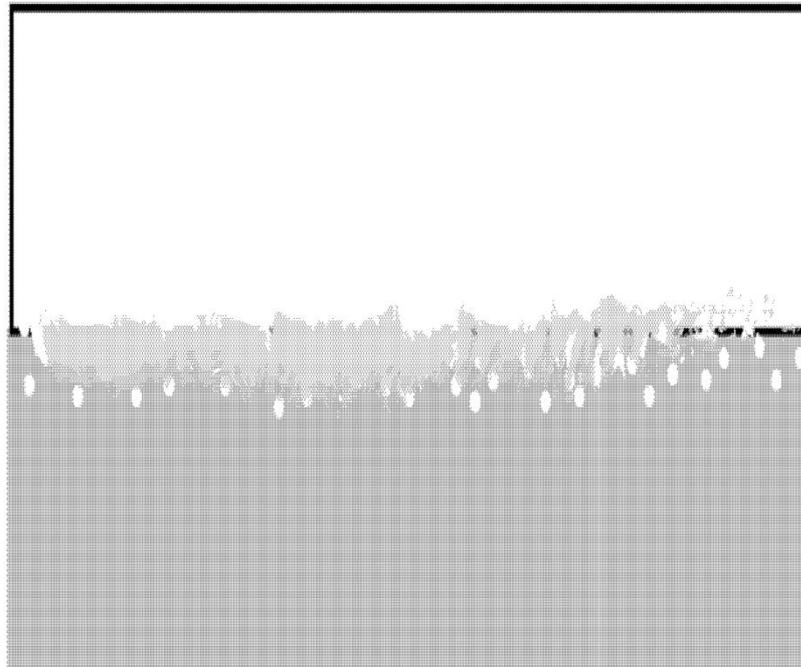


FIG. 9

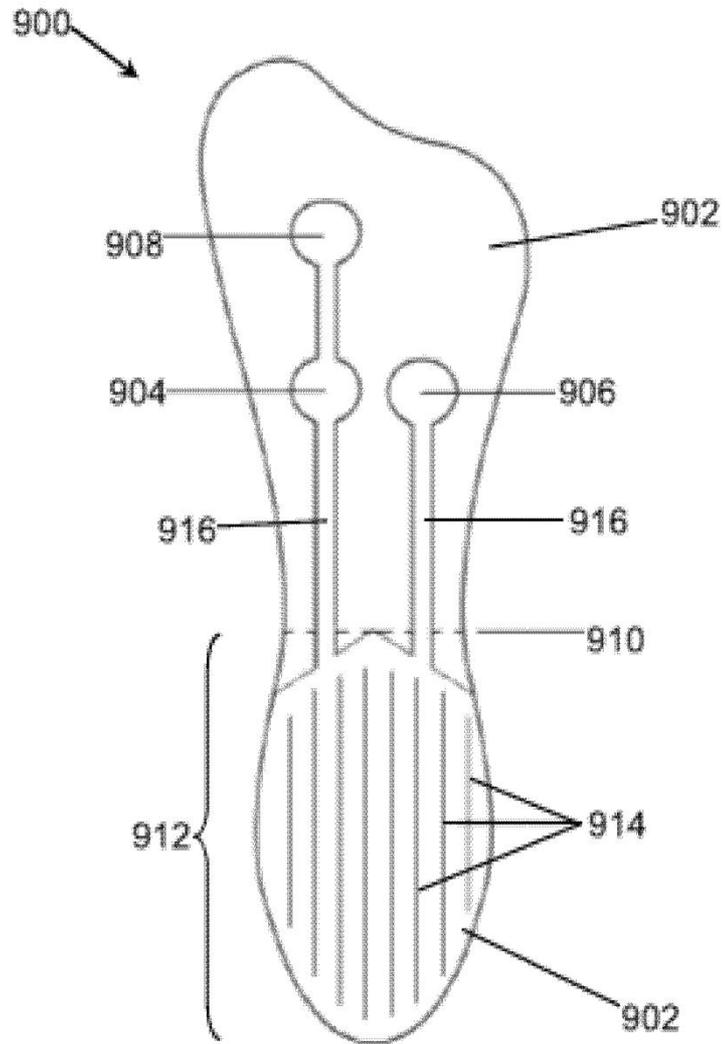


FIG. 10

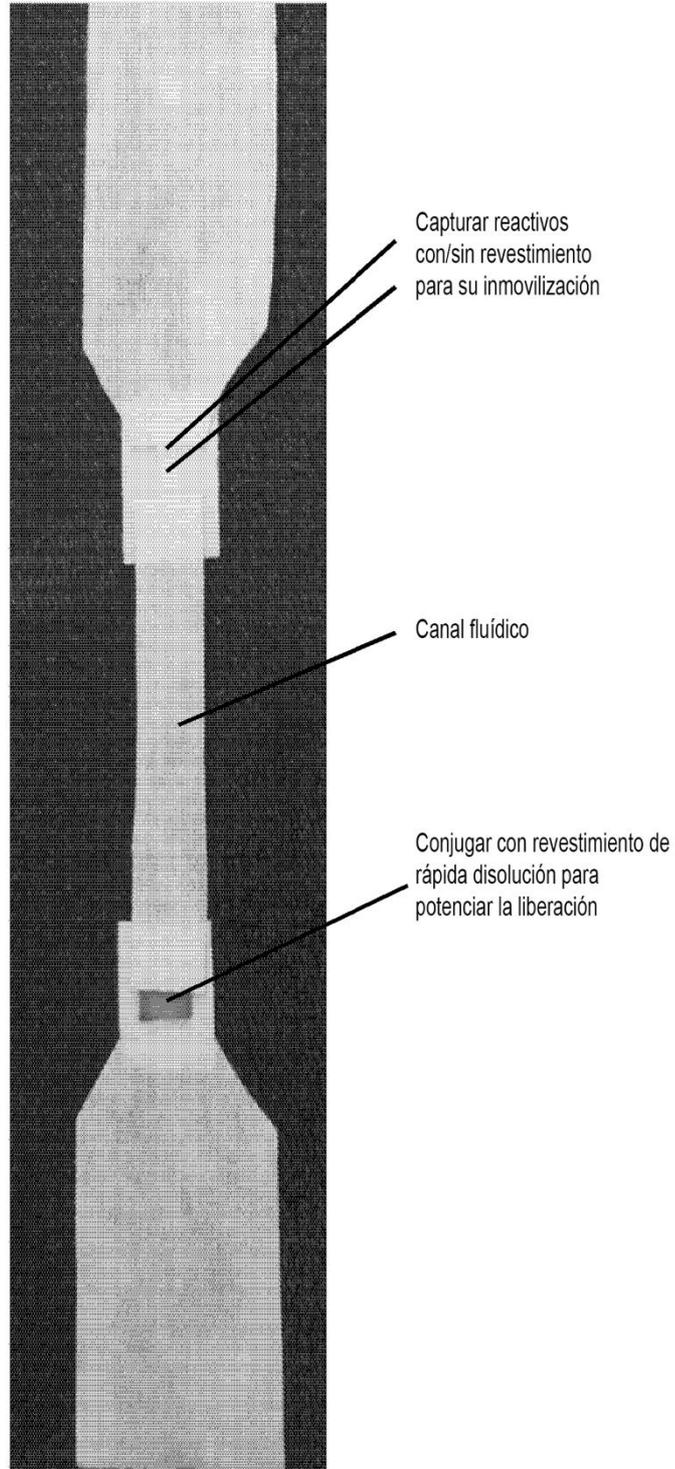


FIG. 11

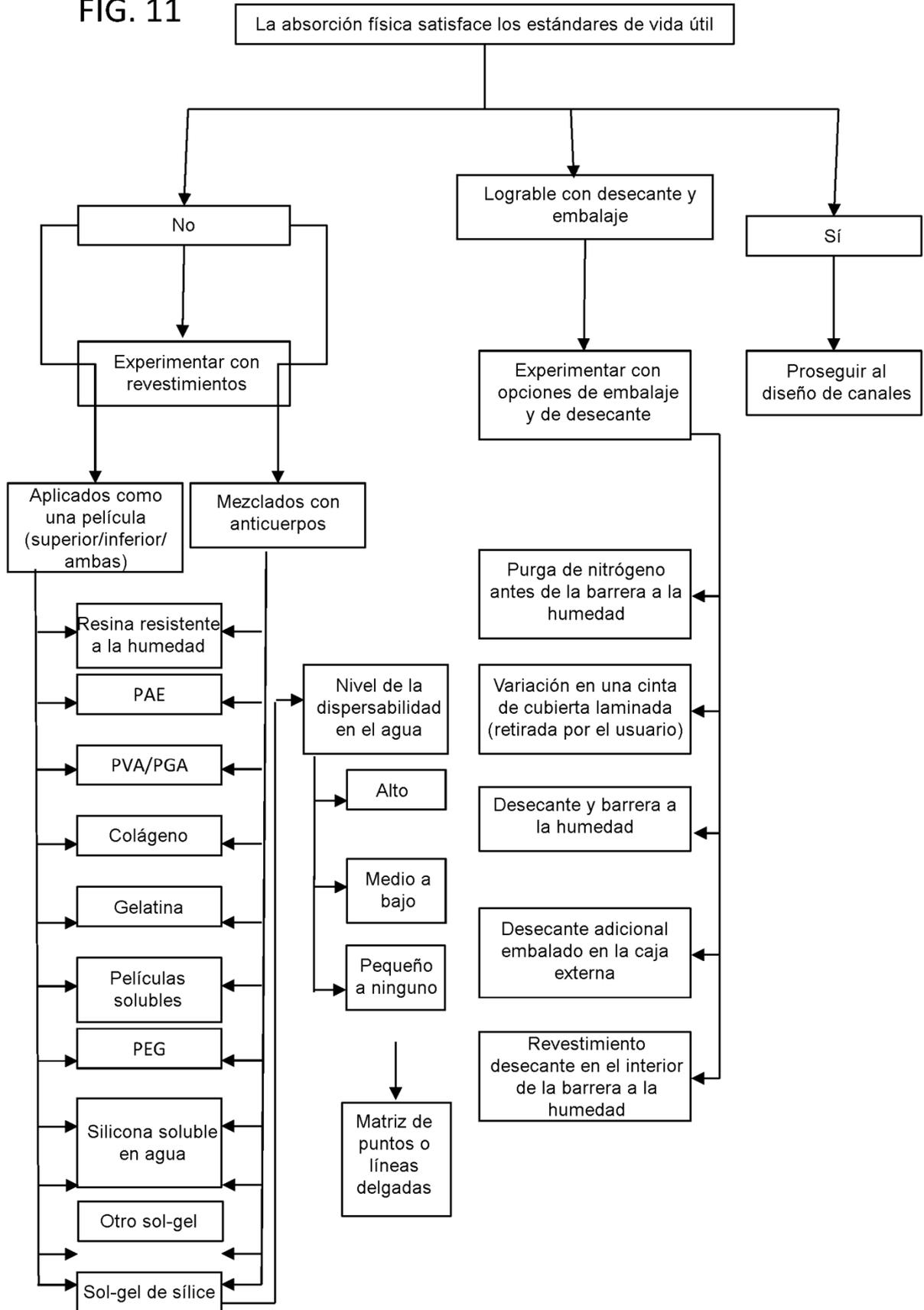
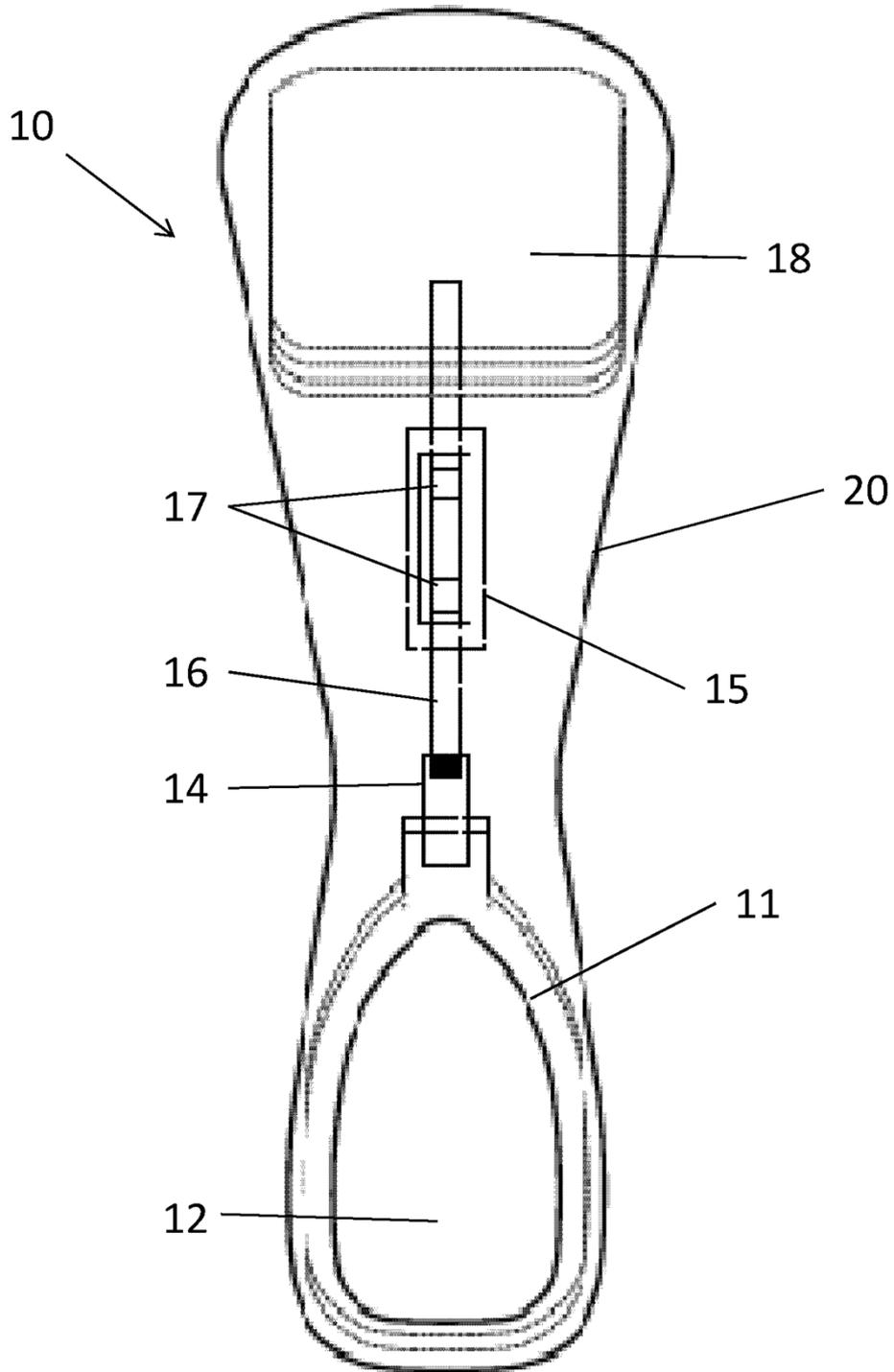
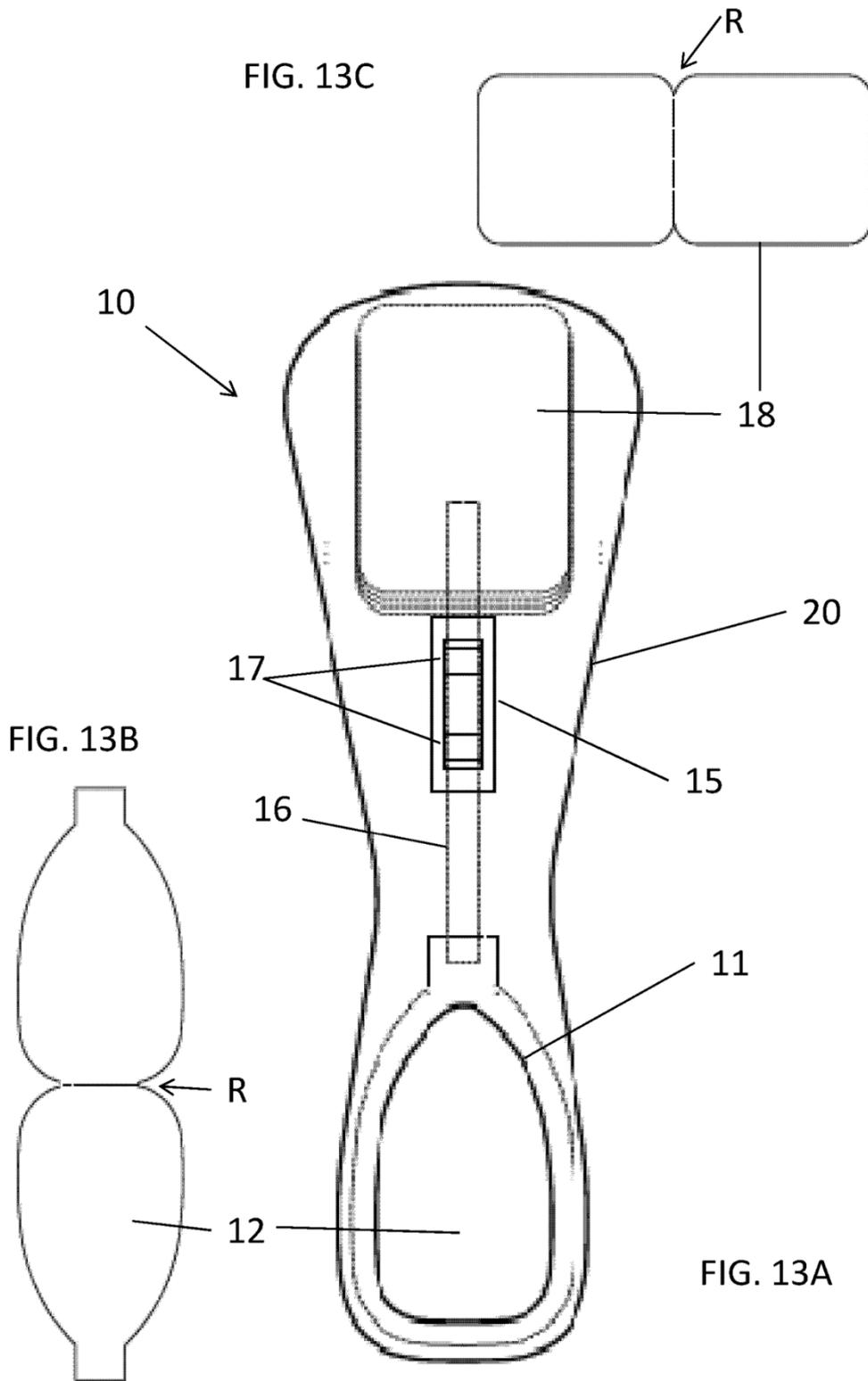


FIG. 12





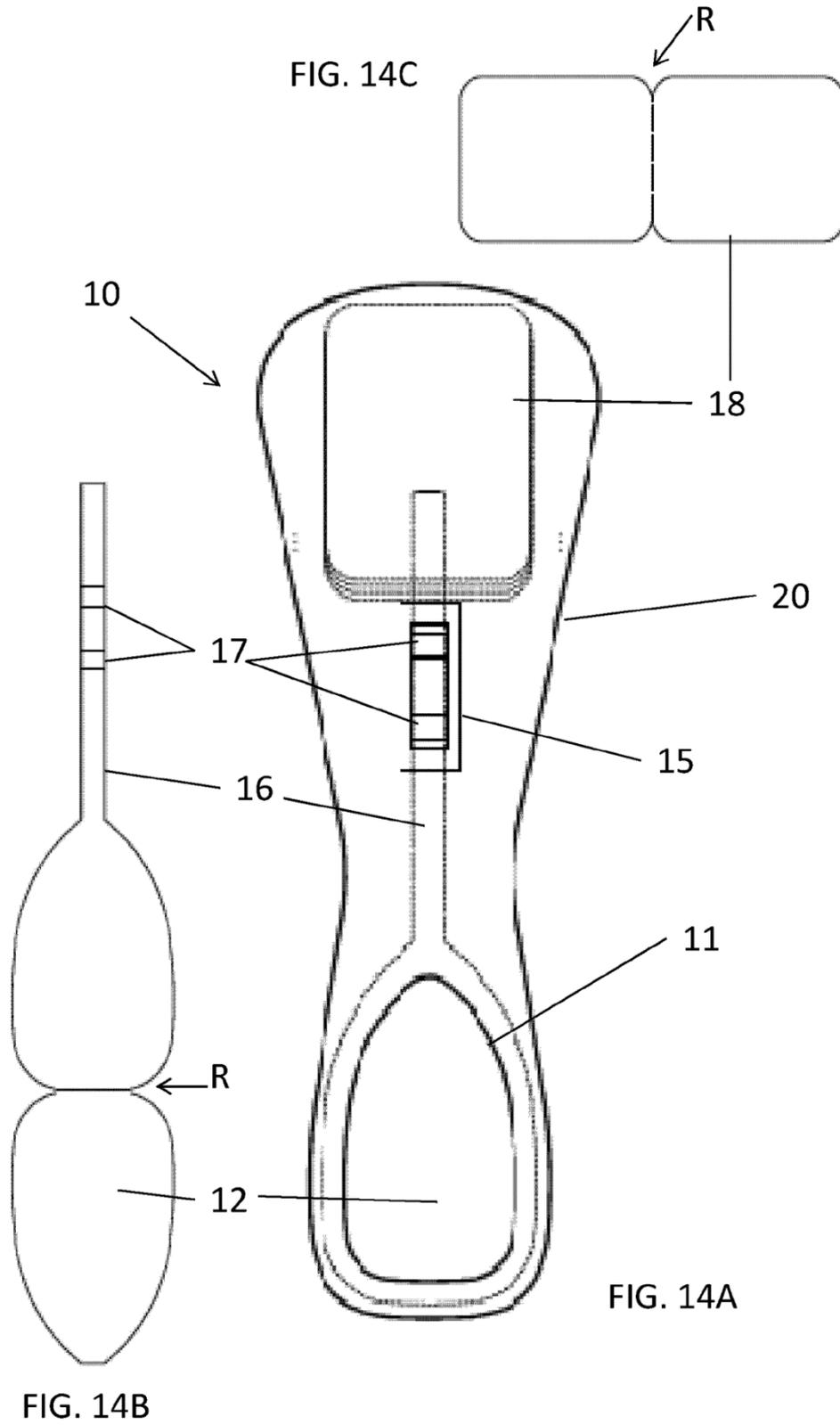


FIG. 15B

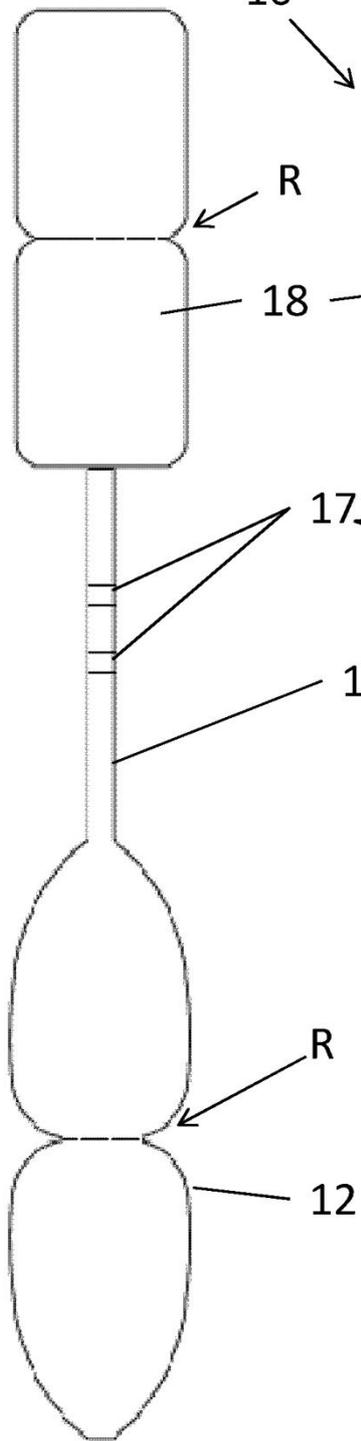
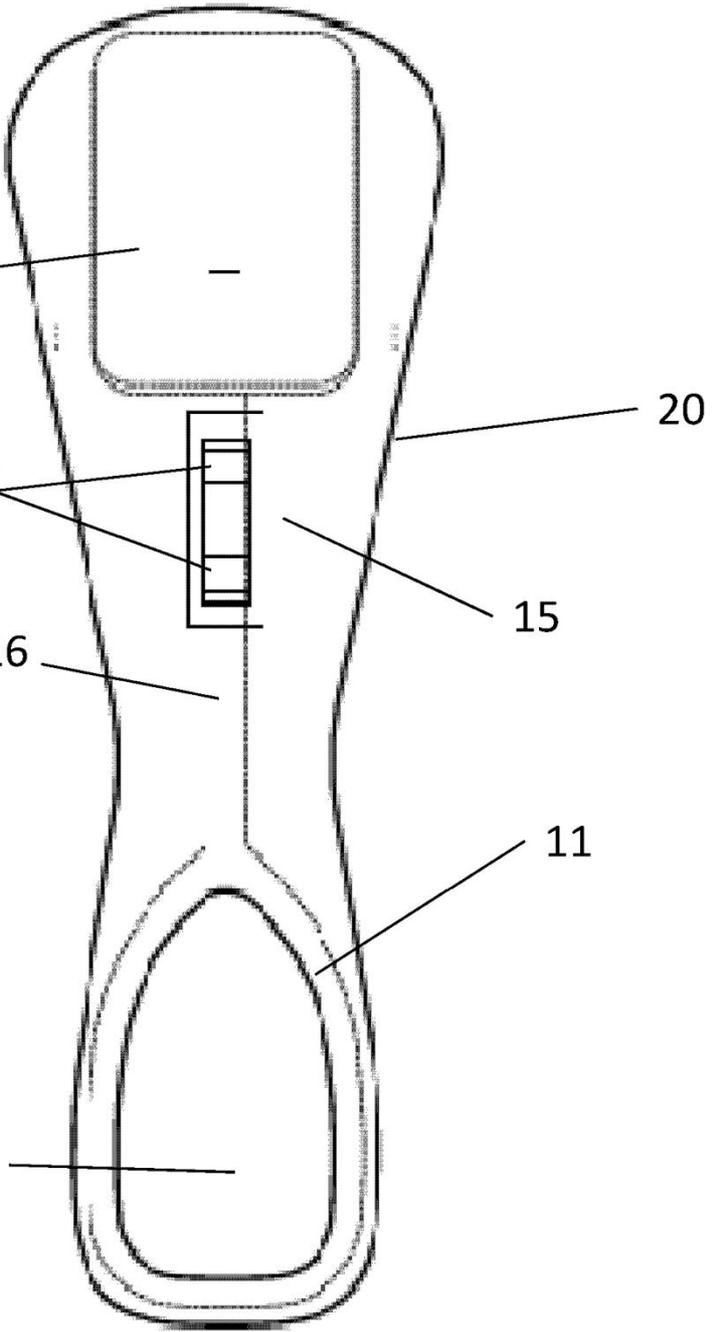


FIG. 15A



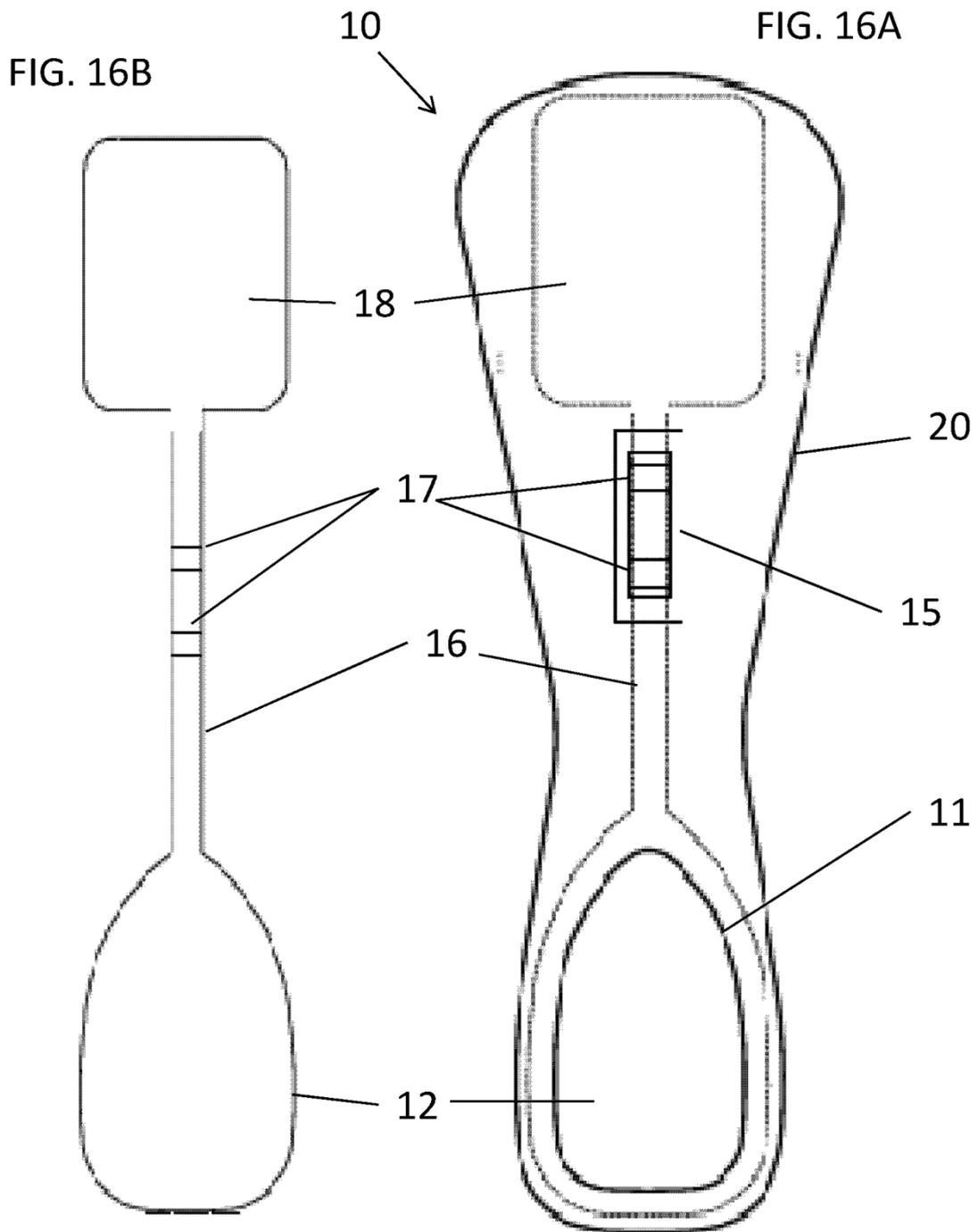


FIG. 17A

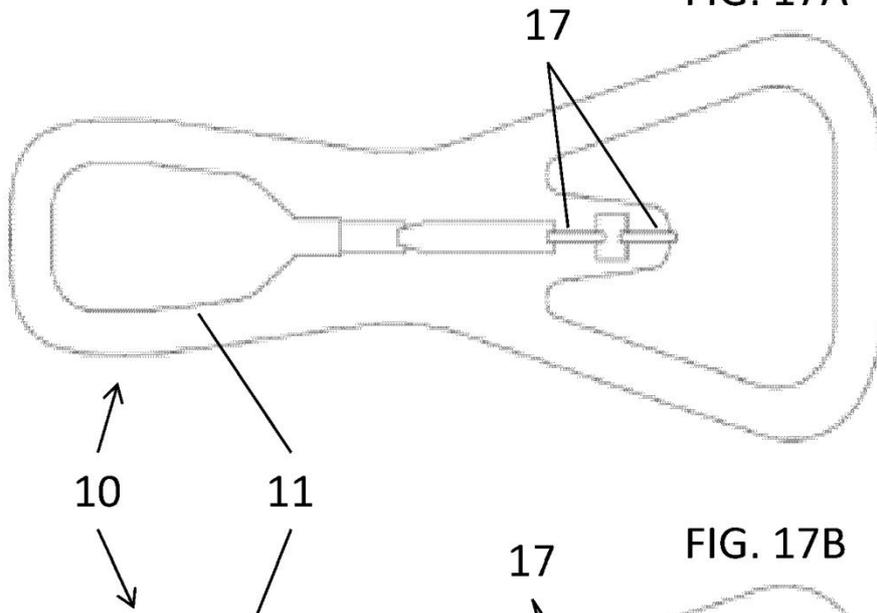


FIG. 17B

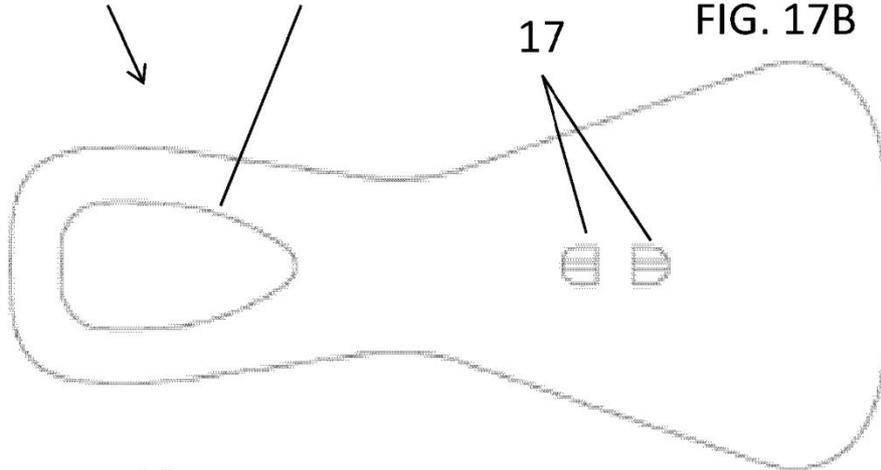


FIG. 17C

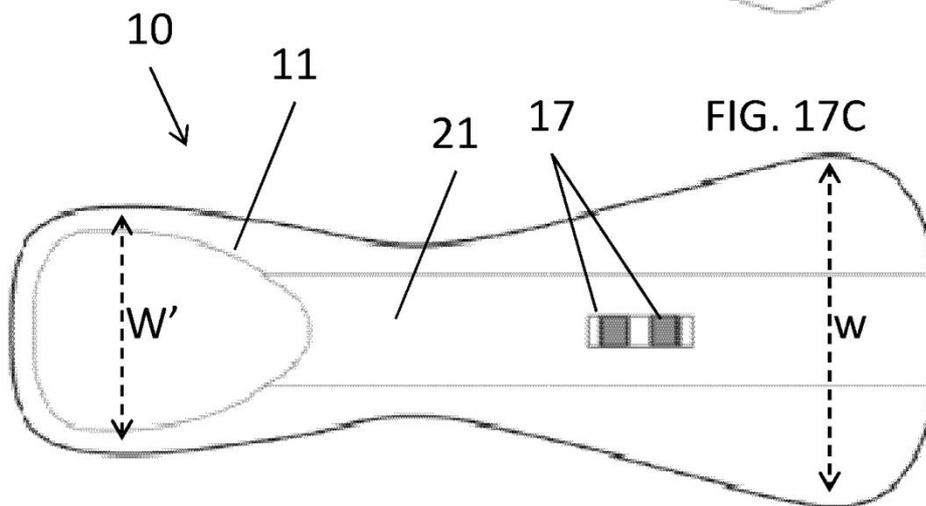


FIG. 18

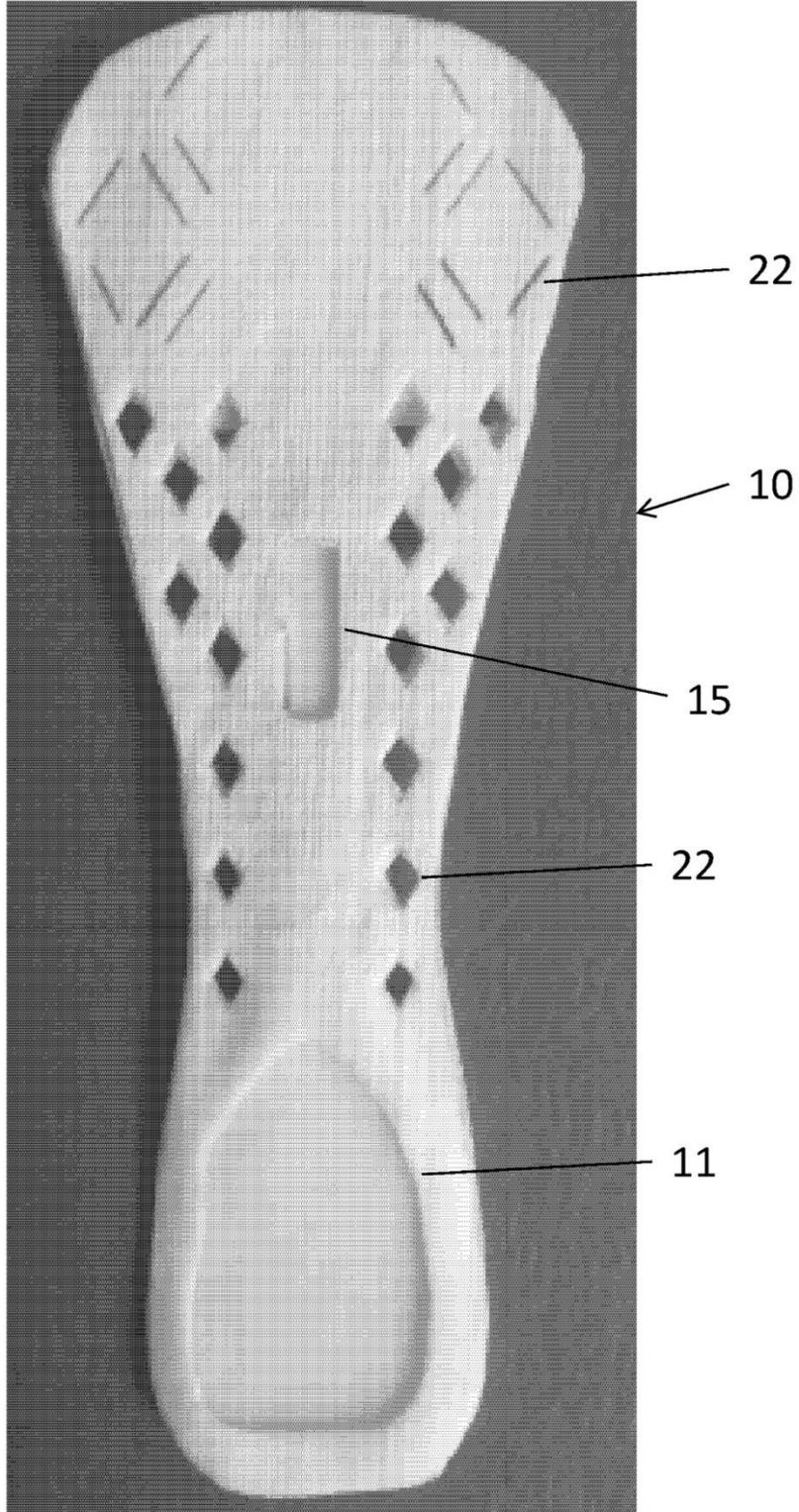


FIG. 19A

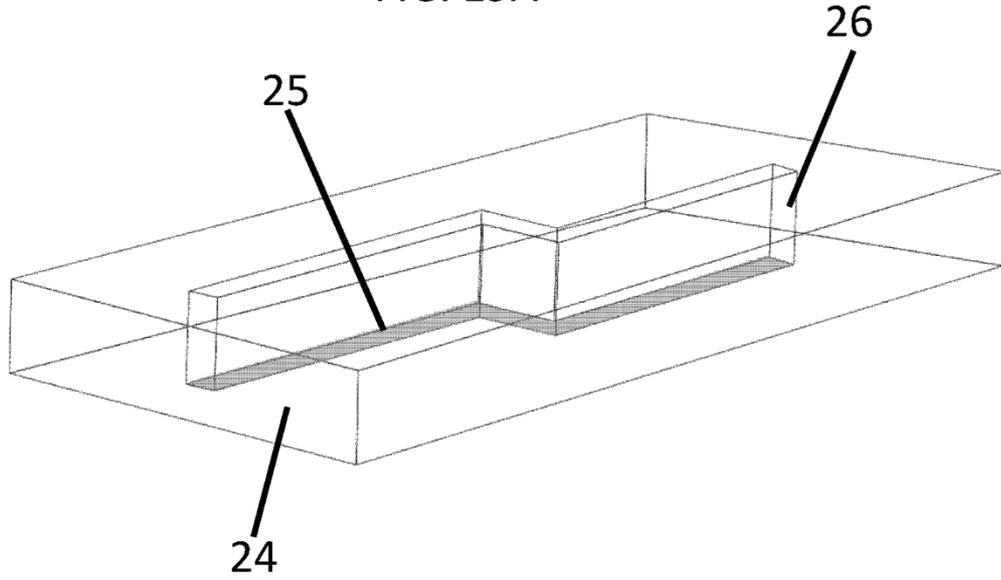


FIG. 19B

