

### Demande de brevet

L'invention concerne un dispositif pour test à écoulement latéral pour la détection d'une molécule cible ainsi qu'une méthode de diagnostic mettant en oeuvre ledit dispositif.

Les tests à écoulement latéral peuvent être utilisés pour diagnostiquer des infections causées par des bactéries et des virus comme le SARS-CoV-2 et ils servent aussi à effectuer des tests de grossesse à domicile.

Les tests à écoulement latéral fonctionnent en faisant migrer par écoulement capillaire un échantillon de liquide le long d'une bandelette-test pour le faire entrer en contact avec un agent de détection, lequel fait apparaître un résultat visuel positif ou négatif.

Les tests à écoulement latéral se basent sur l'interaction entre un anticorps et sa cible. Les anticorps sont des protéines en forme de 'Y', ayant deux bras qui reconnaissent spécifiquement d'autres molécules auxquelles ils se lient. Un anticorps spécifique à une certaine molécule ne se liera qu'à cette molécule et pas aux autres. Par conséquent, l'utilisation d'anticorps dans ces tests permet de détecter très spécifiquement une molécule cible.

D1 décrit (cf Figure 1) un bandelette-test pour un test de grossesse à écoulement latéral qui fonctionne en recueillant un échantillon d'urine sur un tampon échantillon. L'urine s'écoule le long de la bandelette-test pour atteindre la zone de conjugué qui contient un agent de détection, lequel réagit à une molécule cible dans l'urine. Cette réaction entraîne un changement visible qui indique que le test est positif.

La zone de conjugué contient des anticorps (8) qui sont spécifiques à l'hormone hCG. Les anticorps sont attachés à de petites particules de latex de couleur bleue (7). Les conjugués anticorps-latex sont conservés dans la zone de conjugué sous une forme sèche. Si l'hCG est présente dans l'échantillon d'urine, elle se lie aux conjugués et s'écoule en aval dans la bandelette vers la ligne de test (5) pour arriver dans la zone de réaction (3). Au niveau de la ligne de test (5), il y a d'autres anticorps spécifiques à l'hCG (10), mais ces derniers sont fixés à la bandelette. Ces anticorps fixes capturent l'hCG attachée aux particules de latex bleu. C'est ainsi que se forme la ligne bleue que l'on voit sur ces tests de grossesse.

D2 enseigne que les nanoparticules d'or BoucleD'or™ sont bien adaptées à être utilisées dans un large éventail de domaines, par exemple dans celui des cellules solaires, des cristaux liquides, de la catalyse et de l'électronique. Elles peuvent aussi être conjuguées à divers types de molécules biologiques, par exemple les peptides, les protéines (y compris les antigènes et les anticorps), l'ADN et l'ARN.

Il reste le besoin de développer des dispositifs et des méthodes de diagnostic plus sensibles tout en étant précis permettant de détecter des concentrations en molécule cible plus faibles dans les échantillons à analyser.

Cet objectif est réalisé par un dispositif ou une bandelette-test pour test à écoulement latéral tel que revendiqué dans la revendication 1 mettant en oeuvre des nanoparticules d'or (9) de forme sphérique et ayant un diamètre allant de 20 nm à 100 nm attachées aux anticorps (10). Le dispositif permet de décupler la

sensibilité par rapport aux résultats obtenus avec des particules de latex coloré telles qu'utilisées dans l'art antérieur tout en transportant suffisamment d'anticorps pour donner un résultat précis.

La Figure 1A est une représentation graphique du dispositif ou bandelette-test selon l'invention. Le liquide à tester (5) est appliqué sur le tampon échantillon (1).

Le principe de fonctionnement par capillarité est illustré sur la Figure 1B.

Sur la figure 1C, une ligne colorée peut se former attestant de la présence de la molécule

Définition: par dispositif, on entend une bandelette-test

Revendications :

1. Dispositif ou bandelette-test pour test à écoulement latéral pour la détection d'une molécule cible (6), comprenant d'amont en aval :
  - un tampon d'échantillon (1) destiné à recevoir un liquide à tester (5) susceptible de contenir ladite molécule cible (6)
  - un tampon conjugué (2) comprenant un agent de détection (11) étant un conjugué d'un anticorps (10) capable de reconnaître spécifiquement la molécule (6) et de s'y lier et d'une nanoparticule d'or (9) de forme sphérique et ayant un diamètre allant de 20 nm à 100 nm attachée audit anticorps (10)
  - et une membrane de réaction (3) comportant une ligne de test (7) qui contient des anticorps (12) spécifiques à la molécule (6) immobilisés dans une ligne traversant le support de la membrane.
2. Dispositif selon la revendication 1 dans lequel la membrane de réaction (3) comprend en outre une ligne de contrôle (8) contenant un différent type d'anticorps spécifique au conjugué (11) immobilisés dans une ligne traversant la membrane et qui est en aval de la ligne de test (7).
3. Dispositif selon la revendication 1 ou la revendication 2 comprenant en outre un tampon à mèche (4) situé à l'extrémité aval du test.
4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes dans lequel l'anticorps (11) est sous forme séchée.
5. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes dans lequel la constante de dissociation à l'équilibre (Kd) entre l'anticorps (10) et la molécule (6) est inférieur ou égal à  $10^{-7}$  M.
6. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes dans lequel la membrane de réaction est en nitrocellulose.
7. Kit comprenant le dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes et une solution d'extraction (14) destinée à recevoir un échantillon à analyser comprenant la molécule cible (6) conduisant ainsi

au liquide à tester (5).

8. Méthode de diagnostic mettant en oeuvre le dispositif de test selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 ou le kit selon la revendication 7 comprenant les étapes suivantes:

- application du liquide à tester (5) susceptible de contenir la molécule cible (6) sur le tampon échantillon (1) du dispositif
- migration par écoulement capillaire du liquide à tester (5) le long du dispositif
- apparition d'un résultat visuel sous la forme d'une ligne colorée et, le cas échéant, d'une ligne de contrôle.

9. Méthode de diagnostic selon la revendication 8 pour diagnostiquer des infections par des bactéries ou des virus ou pour effectuer des tests de grossesse à domicile.

10. Méthode de diagnostic selon la revendication précédente dans laquelle la molécule cible (6) est la protéine spéculaire du virus SARS-Cov-2.