

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 913 283**

(51) Int. Cl.:

G01N 21/03 (2006.01)
G01N 21/05 (2006.01)
G01N 21/76 (2006.01)
G01F 23/02 (2006.01)
G01F 23/284 (2006.01)
G01F 23/292 (2006.01)
G01N 21/69 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)
B01L 7/00 (2006.01)
B01L 9/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.12.2010 E 19000097 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.02.2022 EP 3514519**

(54) Título: **Cartuchos de ensayo**

(30) Prioridad:

07.12.2009 US 28367709 P
10.12.2009 US 28392709 P
16.12.2009 US 28427609 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.06.2022

(73) Titular/es:

MESO SCALE TECHNOLOGIES, LLC. (100.0%)
1601 Research Boulevard
Rockville, MD 20850, US

(72) Inventor/es:

ANDERSON, NICHOLAS;
DEBAD, JEFFERY;
GLEZER, ELI N.;
KUMAR, SUDEEP;
LAWRENCE, NOEL;
PAGE, KENNETH;
SIGAL, GEORGE y
WEST, SHARON

(74) Agente/Representante:

POLO FLORES, Luis Miguel

ES 2 913 283 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

Cartuchos de ensayo

5 Referencia cruzada a la solicitud relacionada

Se hace referencia a la solicitud copendiente con número de serie 10/744,726, presentada el 23 de diciembre de, 2003, ahora patente de Estado Unidos Núm. 7,497,997 B2, y a la solicitud provisional de Estado Unidos con número de serie 60/436,569, presentada el 26 de diciembre de 2002.

10 Esta solicitud de utilidad reivindica la prioridad a la solicitud provisional de Estado Unidos con número de serie 61/283,677, presentada el 7 de diciembre de 2009, 61/283,927, presentada el 10 de diciembre de 2009, y 61/284,276, presentada el 16 de diciembre de 2009.

15 Declaración sobre la investigación patrocinada federalmente

Esta invención se realizó con apoyo federal bajo HHS 200-2007-19346 otorgado por el Departamento de Salud y Servicios Humanos. El gobierno de los Estados Unidos tiene ciertos derechos sobre la invención.

20 Campo de la invención

La presente invención se refiere a la realización de ensayos químicos, bioquímicos y/o biológicos en una muestra. Estos aparatos incluyen lectores de cartuchos y cartuchos de ensayo para la realización de estos ensayos. La aplicación también describe matrices de electrodos para el uso en ensayos, métodos de preparación y uso de estas matrices de electrodos y de los dispositivos de diagnóstico integrados en las matrices. Estas matrices de electrodos pueden estar incorporadas en los cartuchos y aparatos.

Antecedentes de la invención

30 Las mediciones clínicas tradicionalmente se han llevado a cabo en laboratorios clínicos centrales mediante grandes analizadores clínicos que tienen la capacidad de manejar un gran número de muestras en modo de funcionamiento por lotes. Estos laboratorios están atendidos por personal cualificado que es apto para mantener y manejar estos complejos analizadores. Existe un creciente deseo de trasladar las mediciones clínicas del laboratorio central hacia el «punto de atención», por ejemplo, salas de urgencias de los hospitales, camas del hospital, consultas médicas, casas particulares, etc. Las mediciones en el punto de atención permiten que un profesional sanitario o paciente pueda tomar decisiones con rapidez, basadas en la información del diagnóstico, en lugar de tener que esperar horas o días para recibir los resultados de laboratorio desde un laboratorio clínico. La dificultad para desarrollar sistemas de diagnóstico en el punto de atención ha estado en hacerlos lo suficientemente pequeños y lo suficientemente fáciles de usar, de manera que los pueda utilizar el personal no especializado en entornos clínicos descentralizados, pero que mantengan a la vez los costes bajos, un menú de ensayo variado y/o el alto rendimiento de las pruebas que se realizan en los analizadores clínicos tradicionales en los laboratorios centrales.

45 Con respecto a la técnica anterior, la atención se lleva al documento US 2004/0189311 A1 a partir del cual módulos de ensayo, preferentemente cartuchos de ensayo, se conocen como aparatos de lectura que pueden usarse para controlar aspectos de la operación del módulo. Los módulos comprenden preferentemente una cámara de detección con electrodos integrados que pueden usarse para realizar mediciones de luminiscencia inducidas por electrodo. Los métodos se describen para inmovilizar reactivos de ensayo de manera controlada en estos electrodos y otras superficies. Los módulos y cartuchos de ensayo también se describen que tienen una cámara de detección, preferentemente que tiene electrodos integrados, y otros componentes fluidos que pueden incluir cámaras de muestras, cámaras de desechos, conductos, respiraderos, trampas de burbujas, cámaras de reactivos, zonas de patillas de reactivos secos, y similares. En ciertas realizaciones preferidas, estos módulos se adaptan para recibir y analizar una muestra recolectada en una varilla aplicadora.

55 Resumen de la invención

55 Por lo tanto, la presente invención proporciona un cartucho de ensayo, de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas, que puede utilizarse para llevar a cabo un ensayo biológico en un lector de cartuchos. El cartucho de ensayo y el lector que lo acompaña incluyen numerosas funciones para facilitar la recogida de muestras y el procesamiento del ensayo.

60 La invención se establece en el conjunto de reivindicaciones adjuntas – “realizaciones” que no están de acuerdo con la invención y deben entenderse con propósitos de ilustración solamente.

65 En un ejemplo, no de acuerdo con la invención, la descripción proporciona un cartucho de ensayo que incluye una ventanilla indicadora para facilitar la recogida de muestras y su procesamiento en el cartucho de ensayo. El cartucho de ensayo incluye una cámara de muestras, una ventanilla indicadora de la muestra y un trayecto óptico desde una

- superficie reflectante hasta dicha ventanilla indicadora en la que la superficie reflectante refleja el nivel de muestra dentro de la cámara de muestras hacia la ventanilla indicadora. Alternativamente, el cartucho de ensayo puede incluir una cámara de muestras, una ventanilla indicadora de la muestra, una superficie reflectante y un trayecto óptico que conecta la cámara de muestras, la ventanilla indicadora de la muestra y la superficie reflectante. La ventanilla indicadora de la muestra puede incluir un elemento indicador, por ejemplo, una línea que indica el nivel de líquido dentro de la cámara de muestras, donde el nivel se ha seleccionado del grupo que consiste en una muestra mínima, una muestra máxima, un nivel objetivo y una combinación de los mismos. Alternativamente, el elemento indicador es una delimitación de la ventanilla indicadora.
- 5
- 10 La superficie reflectante puede ser una superficie de espejo, y en una forma de realización, el cartucho consta de un cuerpo del cartucho y la superficie reflectante es proporcionada por la reflexión total interna en una superficie dispuesta en ángulo en el cuerpo del cartucho. La superficie dispuesta en ángulo puede configurarse de modo que el ángulo de incidencia a lo largo del trayecto óptico sea mayor que un ángulo crítico para la reflexión total interna en la superficie reflectante. En una forma de realización, la superficie dispuesta en ángulo es proporcionada por una superficie de una cavidad en el cuerpo del cartucho, de modo que la luz que pasa a través del cuerpo del cartucho a lo largo del trayecto óptico se cruza con una interfase aire-cuerpo en la superficie de la cavidad y se refleja a lo largo del trayecto óptico a la ventanilla indicadora. Por ejemplo, el ángulo de incidencia puede ser mayor que o igual a aproximadamente 43 grados; en una forma de realización concreta, el ángulo de incidencia es de aproximadamente 45 grados. El cuerpo del cartucho puede contener un material con un índice de refracción superior o igual a 1,46 y puede incluir una parte superior del cartucho, una parte inferior del cartucho y una capa de cubierta acoplada a la parte inferior del cartucho y el trayecto óptico puede ser proporcionado por la parte superior del cartucho. La cámara de muestras en el cartucho de ensayo puede estar conectada a un rebosadero a través de un conducto de rebose de muestra, donde el rebosadero está conectado a un puerto de ventilación de la muestra a través de un conducto de ventilación, opcionalmente ubicado en la parte superior del rebosadero o cerca de ésta.
- 15
- 20
- 25
- 30 La descripción, no de acuerdo con la invención, también proporciona un método para determinar el nivel de líquido en un cartucho de ensayo que incluye una ventanilla indicadora de la muestra. Este método incluye las etapas de: (a) añadir un volumen de líquido a la cámara de muestras, donde el nivel de líquido se refleja a través del trayecto óptico a la ventanilla indicadora; (b) visualizar el nivel de líquido en la ventanilla indicadora de la muestra; y (c) comparar el nivel de líquido en relación con un elemento indicador en la ventanilla indicadora de la muestra.
- 35
- 40 La invención proporciona un cartucho de ensayo que incluye una cámara de muestras configurada para recibir y procesar una muestra depositada en una varilla aplicadora. Ese cartucho de ensayo puede utilizarse para analizar una muestra recogida con una varilla aplicadora que consta de un eje y un cabezal de recogida de muestras (por ejemplo, un hisopo); el cartucho consta de una cámara de muestras con una cavidad alargada que posee una primera zona y una segunda zona, donde la primera y la segunda zona están orientadas en un ángulo, la una con respecto a la otra, y el ángulo se escoge para doblar el eje tras la inserción de la varilla aplicadora en la cámara de muestras y promover la fractura del eje, donde la cámara de muestras consta de un elemento para la retención del cabezal de muestreo. El elemento de retención puede elegirse del grupo que incluye una lengüeta, una plataforma, y combinaciones de las mismas. En una forma de realización, el elemento de retención es una lengüeta y la lengüeta está inclinada para permitir la inserción del eje dentro de la cámara de muestras y para impedir la remoción del cabezal de recogida de muestras de la cámara de muestras. La cámara de muestras puede incluir un sitio para la extracción del cabezal de recogida de muestras en o cerca del término de la cavidad y la lengüeta se coloca en la cavidad con el fin de mantener el cabezal de recogida en el lugar de la extracción. El elemento de retención puede ser una plataforma, donde la plataforma es una discontinuidad escalonada en la superficie interior de la cámara de muestras. La cámara de muestras puede ser curva y el radio de curvatura de la superficie interna, como función del aumento de profundidad en la cavidad alargada, pasa de un primer valor a un segundo valor más alto en la discontinuidad. En una forma de realización, se coloca la plataforma en la cavidad para acoplar un fragmento del eje unido al cabezal después de fracturar el eje para retener el cabezal de recogida en el lugar de extracción. En esta forma de realización, la plataforma puede configurarse para mantener un hisopo en contacto con la plataforma, en el lugar de extracción.
- 45
- 50
- 55 La descripción, no de acuerdo con invención, también proporciona un método para utilizar un cartucho de ensayo con una cámara de muestras configurado tal como se ha descrito anteriormente. Este método incluye las etapas de (a) inserción la varilla aplicadora en la cámara de muestras; (b) fracturación del eje de la varilla aplicadora en un fragmento principal ligado al cabezal para la recogida de muestras y un fragmento de manipulación que se ha separado del cabezal de recogida de muestras; y (c) eliminación del fragmento de manipulación. En este método, el elemento de retención del cabezal de recogida de muestras se engancha en el cabezal de recogida de muestras y retiene el cabezal durante la extracción del fragmento de manipulación.
- 60
- 65 El cartucho de ensayo descrito anteriormente puede incluir un elemento de filtro integrado en la segunda zona, y el cartucho de ensayo comprende una cámara de solución amortiguadora de extracción conectada a un puerto de ventilación de la solución amortiguadora de extracción y a un conducto de solución amortiguadora de extracción conectado a la cámara de muestras, en el que la cámara de muestras está conectada a una cámara de recogida a través de un conducto de la cámara de muestras. El conducto de la solución amortiguadora de extracción puede incluir un perfil adaptador en Z. En una forma de realización, la cámara de muestras consta de un orificio para la

introducción de muestra y la primera zona está próxima al orificio para la introducción de muestra y la segunda zona está situada en posición distal al orificio para la introducción de muestra. La cámara de muestras también puede incluir un término interno y el elemento de filtro integrado está ubicado en o cerca del término; es más, el conducto de la solución amortiguadora de extracción puede estar ubicado en o cerca del término interno de la cámara de muestras, por ejemplo, a menos de aproximadamente 1 a 2 centímetros de la base de la cámara de muestras.

En una forma de realización, el componente de recolección del cartucho de ensayo puede incluir una cámara de recogida y una cámara sensora, donde la cámara de recogida está conectada a (i) un conducto de entrada conectado a la parte superior de la cámara de recogida, donde el conducto de entrada está colocado próximo a la pared de la cámara de recogida; (ii) un conducto de salida conectado a la parte inferior de la cámara de recogida; y (iii) un conducto de detección compuesto por un tubo que se extiende hacia abajo desde la parte superior de la cámara de recogida a una altura predefinida en la cámara de recogida, donde la cámara sensora se conecta al conducto de detección en la parte superior de la cámara sensora y próxima a una pared de la cámara sensora y al respiradero de la cámara sensora. El componente de recolección además puede incluir: (a) un deflector situado en la parte superior de la cámara de recogida y adyacente al conducto de entrada, y/o (b) un sensor óptico adaptado para detectar la presencia de líquido en la cámara sensora.

Es posible adaptar el cartucho de ensayo aquí descrito para realizar varios ensayos de un analito de interés. En una forma de realización, el cartucho está configurado para realizar ensayos de influenza. En esta forma de realización, el cartucho de ensayo incluye una primera cámara de detección y una segunda cámara de detección. La primera cámara de detección incluye un primer conjunto de reactivos de ensayo y la segunda cámara de detección incluye un segundo conjunto de reactivos de ensayo. La primera y la segunda cámara de detección pueden configurarse para realizar mediciones duplicadas o diversas mediciones de un analito de interés. En una forma de realización, el primer conjunto de reactivos de ensayo está configurado para realizar una primera medición de un primer analito y el segundo conjunto de reactivos de ensayo está configurado para realizar una segunda medición de un segundo analito. La primera cámara de detección puede configurarse para la detección y tipificación del virus de la influenza. En esta forma de realización, el primer conjunto de reactivos de ensayo consta de un anticuerpo dirigido a una diana seleccionada del grupo que incluye la nucleoproteína del virus de la influenza A, la nucleoproteína del virus de la influenza B y combinaciones de las mismas y, opcionalmente, el primer conjunto de reactivos del ensayo además consta de un elemento seleccionado del grupo que incluye un control positivo, un control negativo, y combinaciones de los mismos. Además, el primer conjunto de reactivos de ensayo puede incluir un anticuerpo dirigido a una diana adicional seleccionada del grupo que incluye el virus de la influenza C, el adenovirus, el virus paragripal, el metapneumovirus humano y combinaciones de los mismos. El segundo conjunto de reactivos de ensayo puede incluir anticuerpos dirigidos a al menos dos subtipos diferentes del antígeno hemaglutinina (HA). Los diferentes subtipos del antígeno HA se pueden seleccionar del grupo compuesto por H1, H3, H1 del virus de la influenza de origen porcino (SOIV), un subtipo atípico de hemaglutinina atípica, un subtipo pandémico de hemaglutinina, H2, H5, H7, H9, y combinaciones de los mismos. En una forma de realización concreta, la primera cámara de detección incluye una primera gama de electrodos de trabajo con el primer conjunto de reactivos de ensayo inmovilizados en los mismos, estando colocada la primera gama de electrodos de trabajo en una primera matriz unidimensional dentro de la primera cámara de detección; y (ii) la segunda cámara de detección incluye una segunda gama de electrodos de trabajo, con el segundo conjunto de reactivos de ensayo inmovilizados en los mismos, estando colocada la segunda gama de electrodos de trabajo en una segunda matriz unidimensional dentro de la segunda cámara de detección. El cartucho de ensayo también puede incluir un componente adicional seleccionado del grupo que consta de una cámara de solución amortiguadora de extracción, una cámara de solución amortiguadora de lavado, y combinaciones de las mismas. En una forma de realización, la solución amortiguadora de extracción es ácida, por ejemplo, la solución amortiguadora de extracción incluye un agente amortiguador seleccionado del grupo que incluye ácidos carboxílicos, ácidos policarboxílicos, amortiguadores de amonio cuaternario, y combinaciones de los mismos. El agente amortiguador puede incluir un ácido carboxílico seleccionado del grupo formado por ácido acético, ácido láctico, y combinaciones de los mismos. En una forma de realización, el agente amortiguador está compuesto por ácido policarboxílico seleccionado del grupo que incluye ácido cítrico, ácido glutárico y combinaciones de los mismos. La solución amortiguadora de extracción también puede incluir un agente adicional seleccionado del grupo que consta de un agente antiespumante, un tensioactivo, y combinaciones de los mismos, por ejemplo, un agente antiespumante seleccionado del grupo que consta de SE-15, antiespumante 204, antiespumante A, antiespumante B, antiespumante C, antiespumante Y-30, y combinaciones de los mismos; un tensioactivo no iónico seleccionado del grupo que consta de Tween 20, Thesis, Triton X-100 y combinaciones de los mismos; y/o un agente tensioactivo iónico seleccionado entre ácido deoxicólico, CHAPS y combinaciones de los mismos.

La invención también contempla un kit que incluye un cartucho de ensayo tal como se describe aquí. Ese kit puede también incluir una varilla aplicadora. La varilla aplicadora puede incluir un segmento del eje y un segmento del cabezal, donde el segmento del eje consta de un punto débil configurado para romper la varilla aplicadora en el punto débil tras la aplicación de una fuerza sobre la varilla aplicadora. La invención también proporciona un método para analizar una muestra recogida con la varilla aplicadora, que consta de un eje y un cabezal de recogida de muestra, donde la cámara de muestras además incluye (a) un elemento de retención para el cabezal de recogida de muestra; (b) una cámara para la solución amortiguadora de extracción conectada a un puerto de ventilación para la solución amortiguadora de extracción a través de un elemento de filtro integrado a un conducto de solución

amortiguadora de extracción; (c) una cámara de residuos; (d) una primera cámara de detección conectada a la cámara de muestras a través de un conducto de muestras formando una primera ramificación del conducto de muestras; la primera cámara de detección está conectada a la cámara de residuos a través de un conducto de residuos; (e) una segunda cámara de detección está conectada a la cámara de muestras a través de un conducto de muestras formando una segunda ramificación del conducto de muestras, la segunda cámara de detección está conectada a la cámara de residuos a través de un conducto de residuos; y (f) una cámara de reactivos que contiene un volumen de reactivo líquido, donde la cámara de reactivos está conectada al conducto de muestras a través de un conducto de reactivos; donde el método consta de las etapas de (i) la inserción de la varilla aplicadora en la cámara de muestras de tal forma que el hisopo entre en contacto con el elemento de retención, (ii) la ruptura del hisopo dentro de la cámara de muestras; (iii) la extracción de la muestra del hisopo; (iv) el desplazamiento de la muestra extraída de la cámara de muestras hacia la primera y segunda bifurcación del conducto de muestras; (v) el desplazamiento de una parte de la muestra extraída con un volumen determinado hacia la primera y segunda cámara de detección y el desplazamiento de (vi) la muestra extraída en la primera y segunda cámara de detección hacia la primera cámara de residuos; (vii) el desplazamiento del primer reactivo líquido hacia la primera y segunda cámara de detección; y (viii) la medición de una señal desde la primera y la segunda cámara de detección. El conducto de muestras puede incluir un reactivo seco, en cuyo caso el método incluye la reconstitución del reactivo seco en el conducto de muestras antes de la etapa de extracción (iii).

En una forma de realización concreta, la primera cámara de detección incluye un primer conjunto de reactivos de ensayo, y la segunda cámara de detección incluye un segundo conjunto de reactivos de ensayo; la fase de medición (viii) incluye la realización de duplicados o diversas mediciones de un analito de interés en la primera y segunda cámara de detección. En una forma de realización, la etapa de medición (viii) incluye la realización de una primera medición de un primer analito y la realización de una segunda medición de un segundo analito. La primera cámara de detección puede estar configurada para la detección y tipificación del virus de la influenza, y la fase de medición (viii) incluye la medición de una señal que indica la presencia o ausencia de un tipo de virus de la influenza en la muestra. Por ejemplo, el primer conjunto de reactivos de ensayo incluye un anticuerpo dirigido a una diana seleccionada del grupo que incluye la nucleoproteína del virus de la influenza A, la nucleoproteína del virus de la influenza B y combinaciones de las mismas, y la etapa de medición (viii) incluye la medición de una señal que indica la presencia o ausencia de la diana en la muestra. El primer conjunto de reactivos de ensayo puede incluir un anticuerpo dirigido a una diana adicional seleccionada del grupo que incluye el virus de la influenza C, el adenovirus, el virus paragripal, el metapneumovirus humano y combinaciones de los mismos, y la fase de medición (viii) incluye además la medición de una señal que indica la presencia o ausencia de la diana adicional en la muestra. Por otra parte, el segundo conjunto de reactivos de ensayo contiene anticuerpos dirigidos a al menos dos subtipos diferentes del antígeno hemaglutinina (HA), y la etapa de medición (viii) incluye además la medición de una señal que indica la presencia o ausencia de al menos dos subtipos diferentes del antígeno hemaglutinina HA. Los diferentes subtipos del antígeno HA se pueden seleccionar del grupo compuesto por H1, H3, H1 del virus de la influenza de origen porcino (SOIV), un subtipo atípico de hemaglutinina atípica, un subtipo pandémico de hemaglutinina, H2, H5, H7, H9, y combinaciones de los mismos.

La descripción, no de acuerdo con la invención, también proporciona un cartucho de ensayo compuesto por un cuerpo de cartucho que incluye una cámara de reactivos adaptada para acoger una ampolla cilíndrica, donde la cámara consta de paredes laterales y una gama de escuadras de soporte angulares que sobresalen de las paredes laterales, donde las escuadras de soporte están configuradas para ofrecer un soporte multipunto para la ampolla cilíndrica. Las paredes laterales pueden ser inclinadas, de tal forma que el ancho de la cámara de reactivos en la base de la cámara es estrecho en relación con el ancho de la cámara de reactivos en la parte superior de la misma. La gama de las escuadras de soporte puede estar inclinada hacia adentro, de manera que la anchura de la base del soporte sea más estrecha en la parte inferior de la cámara de reactivos que en la parte superior.

Además, la descripción, no de acuerdo con la invención propósitos, contempla un cartucho de ensayo que consta de una cámara de muestras conectada a un componente de recolección a través de un conducto de recogida; el componente de recolección consta de una cámara de recogida y de una cámara sensora, donde la cámara de recogida está conectada a (i) al conducto de recogida, donde el conducto de recogida está conectado a la parte superior de la cámara de recogida y colocado próximo a la pared de la cámara de recogida, (ii) a un conducto de salida conectado a la parte inferior de la cámara de recogida; y (iii) a un conducto de detección que consta de un tubo que se extiende hacia abajo desde la parte superior de la cámara de recogida hasta una altura predefinida en la cámara de recogida, donde la cámara sensora se conecta al conducto de detección en la parte superior de la cámara sensora y próximo a la pared de la cámara sensora; la cámara sensora también se conecta a un respiradero de la cámara sensora. La cámara de recogida además puede incluir un deflector colocado en la parte superior de la misma, adyacente al conducto de recogida entre los conductos de recogida y de detección. Además, el componente de recolección incluye un sensor óptico adaptado para detectar la presencia de líquido en la cámara sensora. La descripción, no de acuerdo con la invención propósitos, además proporciona un método para la recogida de líquido en un cartucho de ensayo como se describe en este documento, donde el método incluye: (i) la introducción de líquido en la cámara de recogida a través del conducto de recogida hasta que un nivel de líquido alcance en la cámara de recogida la altura previamente definida; (ii) la introducción de líquido adicional en la cámara de recogida a través del conducto de recogida, de tal manera que el líquido adicional es transferido a la cámara sensora, a través del conducto de detección; (iii) la detección de líquido en la cámara sensora mediante el sensor óptico; y (iv) la

transferencia de líquido de la cámara de recogida a través del conducto de salida. El líquido introducido en la cámara de recogida puede contener burbujas y el líquido transferido a través del conducto de salida está sustancialmente exento de burbujas y, opcionalmente, el método elimina las burbujas de los líquidos. La cámara de recogida puede incluir un deflector situado en la parte superior de la cámara de recogida y adyacente al conducto de entrada, y el método incluye además el contacto del líquido con el deflector y la pared de la cámara de recogida para restringir las burbujas dentro del líquido.

El cartucho de ensayo puede incluir una cámara de detección y un conducto de distribución interconectados a una gama de conductos de fluidos incluyendo el conducto de salida, un conducto conectado a la cámara de detección y, opcionalmente, uno o varios conductos de fluidos conectados a uno o varios componentes del cartucho seleccionados del grupo que consta de una cámara para la solución amortiguadora de lavado, un respiradero, una cámara de residuos, y combinaciones de los mismos. Una conexión entre el conducto de distribución y uno de los de la gama de conductos de fluidos puede incluir un perfil adaptador en Z. El cartucho puede incluir una apertura de aire y uno o varios de los conductos de fluidos incluye un conducto de ventilación de aire conectado al respiradero, donde el conducto de la cámara de detección está en posición distal respecto del conducto de ventilación de aire. Además, el cartucho puede incluir una cámara de solución amortiguadora de lavado y uno o varios conductos de fluidos incluyen un conducto de cámaras de solución amortiguadora de lavado conectado a la cámara de solución amortiguadora de lavado, donde el conducto de la cámara de solución amortiguadora de lavado está próxima al conducto de ventilación de aire y en posición distal respecto al conducto de la cámara de detección.

El cartucho de ensayo aquí descrito también puede incluir un orificio para la introducción de muestra que consta de un cierre hermético que incluye un mecanismo de sellado/cierre con tapa que consta de (a) una bisagra flexible; (b) un mecanismo de traba; y (c) un componente de retención compuesto por un anillo o pestaña de retención. En una forma de realización, el mecanismo de sellado/cierre con tapa es un sistema modular extraíble compuesto por un tapón para cerrar la cámara de muestras.

La descripción, no de acuerdo con la invención, también proporciona una ruta de flujo de líquido compuesta de: (a) una primera zona de resistencia; b) una zona de conexión próxima a la primera zona de resistencia; y (c) una zona de resistencia coincidente próxima a la zona de conexión y en posición distal respecto a la primera zona de resistencia, donde la resistencia hidrodinámica de la primera zona de resistencia coincidente es sustancialmente equivalente a la resistencia hidrodinámica de la primera zona de resistencia y es sustancialmente mayor que la resistencia hidrodinámica de la zona de conexión. La ruta de flujo también puede incluir una región adicional seleccionada del grupo que consta de: (d) una zona de entrada próxima a la primera zona de resistencia y en posición distal respecto a la zona de conexión; (e) una zona de salida próxima a la zona de resistencia coincidente y en posición distal con respecto a la zona de conexión; y (f) combinaciones de las mismas. En una forma de realización, la zona de conexión está dispuesta siempre en el mismo plano que la primera zona de resistencia. Alternativamente, se dispone la zona de conexión en un plano diferente con relación a la primera zona de resistencia y la zona de resistencia coincidente. La zona de conexión puede incluir un perfil adaptador en Z entre la primera zona de resistencia y la zona de resistencia coincidente. La zona de conexión puede estar situada en un orificio de salida de la primera zona de resistencia y/o la zona de resistencia coincidente puede estar situada en un orificio de salida de la zona de conexión.

La descripción, no de acuerdo con la invención, además proporciona una red de fluidos que comprende la ruta del flujo de líquido aquí descrita. La red de fluidos puede, además, incluir un componente de medición asociado a la ruta del flujo de líquido y configurado para medir un golpe de líquido a través de la primera zona de resistencia, la zona de conexión y la zona de resistencia coincidente. El componente de medición puede configurarse para medir el golpe de líquido a través de una zona de flujo de líquido adicional, seleccionado del grupo que consta de: (d) una zona de entrada próxima a la primera zona de resistencia y en posición distal con respecto a la zona de conexión; (e) una zona de salida proximal a la zona de resistencia coincidente y en posición distal con respecto a la zona de conexión; y (f) combinaciones de las mismas. En una forma de realización, el volumen medido es aproximadamente igual a la suma de los volúmenes de la primera zona de resistencia y las zonas de conexión. La suma de los volúmenes de la primera zona de resistencia y la zona de conexión es aproximadamente del 75-125 %, por ejemplo, entre el 85-115 %, el 95-105 % o el 100 % del volumen medido. Alternativamente, la suma de los volúmenes de la primera zona de resistencia y la zona de conexión es aproximadamente del 100-125 %, por ejemplo, entre el 100-115 % o el 100-105 % del volumen medido. El volumen del golpe de líquido puede ser inferior a unos 200 µl, por ejemplo, menos de unos 50 µl o menos de unos 10 µl.

El volumen del golpe de líquido puede estar entre unos 20 µl y unos 50 µl. Más aún, el volumen de la primera zona de resistencia en relación con el volumen del golpe de líquido varía en un rango de alrededor del 10-90 %, por ejemplo, alrededor del 20-80 %, o del 30-70 %. En una forma de realización, el volumen combinado de la primera zona de resistencia y la zona de conexión en relación con el volumen del golpe de líquido varía en un rango de alrededor del 10-90 %, por ejemplo, alrededor del 20-80 %, o del 30-70 %.

La ruta del flujo de líquido aquí descrita puede incluir una zona de soplado en la primera zona de resistencia. La primera zona de resistencia puede ser una celda de flujo de alta relación de aspecto. En una forma de realización concreta, la primera zona de resistencia está configurada como una cámara de detección. La primera zona de

resistencia puede medir alrededor de 125 micras x 3000 micras (5 milipulgadas x 120 milipulgadas) y la zona de resistencia coincidente puede medir alrededor de 250 micras x 2000 micras (10 milipulgadas x 80 milipulgadas).

- 5 En una forma de realización, la altura de la primera zona de resistencia es aproximadamente la mitad de la altura de la zona resistencia coincidente. Más aún, la zona de entrada incluye una zona de lanzamiento y la zona de entrada está situada entre dos zonas sensoras, donde el volumen de la zona de conexión es igual o mayor que el volumen de la zona de lanzamiento.
- 10 La descripción, no de acuerdo con la invención, también proporciona un método para mover el líquido en una red de fluidos que incluye: (a) la introducción de un golpe de líquido en una ruta del flujo de líquido adaptada a la resistencia hidrodinámica dentro de la red de fluidos, donde la ruta de flujo consta de los siguientes componentes: (i) una primera zona de resistencia; (ii) una zona de conexión proximal a la primera zona de resistencia; y (iii) una zona de resistencia coincidente próxima a la zona de conexión y distal a la primera zona de resistencia; y (b) con utilización de aire a presión para mover el golpe de líquido a través de la ruta de flujo. La ruta de flujo puede configurarse de manera que (i) la resistencia hidrodinámica de la zona de resistencia coincidente sea sustancialmente equivalente a la resistencia hidrodinámica de la primera zona de resistencia y sustancialmente mayor que la resistencia hidrodinámica de la zona de conexión; y que (ii) el volumen del golpe de líquido sea mayor que el volumen de la primera zona de resistencia y menor que el volumen combinado de la primera zona de resistencia, la zona de conexión y la zona de resistencia coincidente. El método puede, además, incluir la medición del golpe de líquido antes de introducir el golpe de líquido en la ruta de flujo (etapa (a)). El método también puede incluir las siguientes etapas: (a) La introducción del golpe de líquido en la zona de entrada (con una zona de lanzamiento), en la primera zona de resistencia y en la zona de conexión; (b) el desplazamiento del golpe de líquido bajo presión de aire hasta que el borde posterior del golpe de líquido pase por el segundo sitio de detección; (c) el desplazamiento del golpe de líquido bajo presión de aire en la dirección inversa hasta que el borde anterior del golpe de líquido pase por el primer sitio de detección; (d) la repetición de los pasos (b) y (c) una multitud de veces para lograr una acción de mezcla en ambas direcciones. Además, el método también puede incluir (d) la eliminación del golpe de líquido de la primera zona de resistencia a través de la zona de resistencia coincidente y, opcionalmente, mantener un caudal constante a medida que el golpe de líquido haya sido eliminado de la ruta de flujo.
- 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65
- También se proporciona un lector de cartuchos configurado para analizar un ensayo realizado en un cartucho de ensayos; el lector de cartuchos consta de (a) una carcasa; (b) una bandeja de cartuchos para albergar un cartucho durante el análisis en el lector de cartuchos; (c) un riel en la carcasa, donde se coloca la bandeja de cartuchos en el riel y es posible moverla hacia dentro y fuera de la carcasa desplazándose a lo largo del riel (d) un accionador para mover la bandeja del cartucho a lo largo del riel, (e) un bastidor de montaje en la carcasa; el bastidor de montaje está configurado para alinear el cartucho con uno o varios componentes del lector; y (f) una guía de alineación unida a la bandeja de cartuchos que está configurada para interaccionar y controlar el movimiento del bastidor de montaje. El cartucho de ensayo puede incluir una celda de flujo con una cámara de muestras, una cámara de detección y una salida, donde la cámara de muestras, la cámara de detección, y la salida definen una trayectoria del flujo a través de la celda de flujo, y la cámara de detección incluye una gama de electrodos. El actuador puede incluir un motor y un tornillo de avance que actúa conjuntamente con una tuerca del tornillo de avance fijada a la bandeja de cartuchos, donde el motor está configurado para girar el tornillo de avance para trasladar la tuerca del tornillo de avance, para desplazar la bandeja de cartuchos a lo largo del riel. El componente del lector o los componentes del lector se seleccionan del grupo que consiste en (i) un conjunto de fotodiodos que consta de al menos un fotodiodo; (ii) un mecanismo de ruptura de ampollas; (iii) un conjunto de clavijas de contacto para electrodos; (iv) un colector para fluidos configurado para impulsar el movimiento del líquido dentro de la ruta de flujo y (v) un lector de código de barras. La carcasa puede ser una carcasa opaca y la carcasa consta además de una puerta para sellar la carcasa opaca. En una forma de realización, uno o varios componentes del lector incluyen un mecanismo de ruptura de ampollas y el mecanismo de ruptura de ampollas está fijado al bastidor de montaje. Además, uno o varios componentes del lector pueden incluir el conjunto de clavijas de contacto para electrodos y el conjunto de clavijas de contacto para electrodos está fijado al bastidor de montaje y sostiene las clavijas conductivas configuradas para realizar el contacto eléctrico con la gama de los electrodos en el cartucho de ensayo. Uno o varios componentes del lector pueden incluir además el colector de fluidos, y el colector para fluidos está fijado al bastidor de montaje e incluye un elemento adicional seleccionado del grupo que consta de conectores de fluidos para parearse con un puerto de ventilación en el cartucho de ensayo, una bomba de cilindro de aire, una gama de válvulas, y combinaciones de los mismos.
- La guía de alineación puede incluir una pestaña vertical y el bastidor de montaje consta de un pasador de acoplamiento y rodillos, donde la carcasa incluye además rieles en cada lado del bastidor de montaje, en los que los rieles acogen los rodillos y la pestaña vertical entra en contacto con el pasador de acoplamiento durante el movimiento de la bandeja de cartuchos, ocasionando que el bastidor de montaje se traslade a lo largo de los rieles en coordinación con la bandeja de cartuchos. Los rieles incluyen además al menos una zona inclinada hacia abajo y una zona plana, y (i) el movimiento dentro de la zona inclinada ocasiona que el bastidor de montaje baje en relación con la bandeja de cartuchos para el procesamiento del cartucho; y (ii) el movimiento dentro de la zona plana ocasiona que el bastidor de montaje se mueva junto con la bandeja de los cartuchos mientras permanecen en una alineación vertical y horizontal para el procesamiento del cartucho. En una forma de realización, los rodillos se mueven dentro de las zonas inclinadas hacia abajo; el pasador de acoplamiento es acogido en la guía de alineación,

en una muesca definida. El bastidor de montaje puede incluir dos rodillos en cada lado del bastidor de montaje, y ambos rodillos son acogidos en los rieles. La guía de alineación incluye además una muesca adyacente a la pestaña vertical y está configurada para acoger el pasador, y el pasador se acopla a la muesca para sostener de forma liberable el bastidor de montaje en la alineación horizontal. Además, la bandeja del cartucho puede incluir guías 5 verticales configuradas para acoplar el bastidor de montaje, en el que las guías verticales definen la altura vertical del bastidor de montaje en relación con la bandeja del cartucho. El riel puede incluir una zona de plataforma elevada en la que los rodillos reposan cuando el bastidor de montaje no está activado por la guía de alineación, donde la zona de plataforma elevada está conectada a la zona inclinada hacia abajo. En una forma de realización, la zona de plataforma elevada está conectada a la zona inclinada hacia abajo en el vértice de la zona inclinada hacia abajo.

10 El lector de cartuchos de la presente descripción, no de acuerdo con la invención, puede incluir una bandeja de cartuchos con un mecanismo de bloqueo. En una forma de realización, el cartucho de ensayo contiene un listón y la bandeja de cartuchos consta de una ranura para acoger el listón. La ranura puede estar ubicada en una superficie exterior del cartucho de ensayo. Además, el mecanismo de cierre contiene un pestillo giratorio con resorte, un primer 15 pasador configurado para conectar con el cartucho de ensayo, un segundo pasador configurado para conectar con una muesca en el cartucho de ensayo, donde el movimiento del cartucho de ensayo hacia la bandeja de cartuchos entra en contacto con el primer pasador ocasionando que el pestillo gire y que el segundo pasador se acople a la muesca. El pestillo giratorio con resorte puede incluir un resorte para resistir la rotación del pestillo y, opcionalmente, la resistencia del resorte se reduce en cuanto el segundo pasador se acople a la muesca. El pestillo también puede 20 incluir una pestaña, y el mecanismo de bloqueo incluye además un sensor óptico, en el que la pestaña está configurada para cubrir el sensor óptico cuando el mecanismo de bloqueo esté activado. La pestaña puede incluir un pasador que se extiende hacia abajo, hacia el sensor óptico.

25 El lector de uno o varios componentes puede incluir el conjunto de fotodiódos y el conjunto de fotodiódos está formado por un bloque itinerante que incluye pasadores de posicionamiento que se extienden desde el bloque itinerante; los pasadores de posicionamiento están configurados para acoplar el movimiento del bastidor de montaje al movimiento lateral del bloque itinerante. Además, la carcasa incluye un sensor óptico para el posicionamiento de la bandeja de cartuchos y, opcionalmente, un sensor óptico adicional para controlar el movimiento del golpe de líquido en el cartucho de ensayo.

30 La bandeja de cartuchos puede, además, incluir un calefactor integrado y/o un revestimiento que incluye un precinto resistente al agua. El precinto puede incluir una película polimérica y puede transmitir luz infrarroja. En una forma de realización, el precinto no transmite luz visible.

35 El conjunto de fotodiódos también puede incluir un componente de alineación para alinear el fotodiodo con una zona del cartucho de ensayo. Al menos un fotodiodo puede estar acoplado a un acoplador óptico y, opcionalmente, al menos un fotodiodo está acoplado a una guía de luz. En una forma de realización, el acoplador óptico está rodeado por un apantallamiento conductor. Al menos un fotodiodo puede estar montado en el bloque itinerante, configurándose el bloque itinerante para moverse de un lado a otro a lo largo de al menos un cilindro guía montado en el conjunto de fotodiódos. El bloque itinerante puede estar bajo carga de resorte y es móvil cuando se aplica una fuerza suficiente para superar la fuerza del resorte. El lector de cartuchos puede configurarse para analizar un ensayo realizado en un cartucho de ensayo que contiene una ampolla; el lector de cartuchos incluye un mecanismo de ruptura de ampollas que incluye un elemento percutor. El elemento percutor puede acoplarse a un elemento de 40 accionamiento activo que se elige del grupo que incluye un motor, un solenoide y un resorte. En una forma de realización, el elemento percutor está acoplado a un resorte, y el martillo se sostiene bajo una fuerza de resorte. El elemento percutor puede incluir un brazo de palanca que incluye una superficie de impacto, por ejemplo, una superficie de impacto que sobresale, y que opcionalmente puede ser puntiaguda. El elemento percutor puede configurarse para elevarse y bajar en relación con el cartucho de ensayo mediante la rotación del elemento percutor alrededor de un eje del percutor y, opcionalmente, el elemento percutor incluye además una superficie de 45 control en coordinación con una leva colocada en un eje de mando giratorio, donde la rotación del eje de mando eleva y baja la superficie de impacto en relación con el cartucho de ensayo. La leva puede incluir un tope mecánico colocado en una superficie de la leva y, opcionalmente, la leva está en coordinación con un tope mecánico posicionado en un elemento adicional del mecanismo de ruptura de ampollas, por ejemplo, una estructura situada en el mecanismo de ruptura de ampollas. La superficie de la leva puede ser circular y consta de una pestaña que 50 sobresale de la superficie.

55 En una forma de realización, el cartucho de ensayo incluye dos ampollas, y el mecanismo de ruptura de ampollas está configurado para romper las dos ampollas en serie o en paralelo. El mecanismo de ruptura de ampollas puede configurarse para romper las dos ampollas en serie o en paralelo. El mecanismo de ruptura de ampollas puede incluir una pluralidad de mecanismos de liberación de ampollas; cada mecanismo de ruptura de ampollas consta de un primer mecanismo de liberación de ampollas y de un segundo mecanismo de liberación de ampollas, donde el primer mecanismo de liberación de ampollas incluye un primer elemento percutor en coordinación con una primera leva sobre un eje de mando, y el segundo mecanismo de liberación de ampollas incluye un segundo elemento percutor en coordinación con una segunda leva sobre el eje de mando. La primera y la segunda leva pueden estar ubicadas en diferentes posiciones giratorias relativas en el mecanismo de ruptura de ampollas, y la primera y la 60 segunda leva están configuradas para acoplar el primer y el segundo elemento percutor en diferentes momentos.

65

durante la rotación del eje de mando. Alternativamente, la primera y la segunda leva están situadas en aproximadamente las mismas posiciones de giro relativas en el mecanismo de ruptura de ampollas, y la primera y la segunda leva están configuradas para acoplar el primer y el segundo elemento percutor aproximadamente al mismo tiempo durante la rotación del eje de mando.

5 La descripción, no de acuerdo con la invención, también proporciona un método para utilizar un lector de cartuchos configurado para analizar un ensayo realizado en un cartucho de ensayo; el lector de cartuchos consta de (a) una carcasa formada por un bastidor de montaje configurado para alinear el cartucho con uno o varios componentes del lector ubicados dentro de la carcasa; (b) una bandeja de cartuchos montada en un riel configurado para mover la bandeja hacia dentro y fuera de la carcasa, donde la bandeja de cartuchos incluye una guía de alineación configurada para controlar de forma selectiva el movimiento del bastidor de montaje; y (c) un accionador para mover la bandeja del cartucho a lo largo del carril; el método consta de los siguientes pasos: (i) la inserción del cartucho de ensayo en la bandeja de cartuchos; (ii) el desplazamiento de la bandeja de cartuchos a la carcasa; (iii) el desplazamiento de la bandeja del cartucho dentro de la carcasa para ocasionar que el bastidor de montaje baje en relación con la bandeja de cartuchos para el procesamiento del cartucho; (iv) el desplazamiento de la bandeja del cartucho dentro de la carcasa para ocasionar que el bastidor de montaje se mueva a lo largo de la bandeja de cartuchos, donde la bandeja de cartuchos y el bastidor de montaje permanecen en alineación vertical y horizontal para el procesamiento del cartucho por el componente o por varios componentes del lector. El bastidor de montaje puede incluir un pasador de acoplamiento y rodillos, donde los rieles acogen los rodillos en cada lado del bastidor de montaje, y el bastidor de montaje consta de una pestaña vertical y la pestaña vertical entra en contacto con el pasador de acoplamiento durante el movimiento de la bandeja de cartuchos; las etapas de movimiento (iii) incluyen además el contacto con la pestaña vertical y el pasador de acoplamiento para ocasionar que el bastidor de montaje se traslade a lo largo de los rieles en coordinación con la bandeja del cartucho. En una forma de realización, los rieles constan de al menos una zona inclinada hacia abajo y una zona plana, y la etapa de movimiento (iii) consta del desplazamiento de la bandeja de cartuchos dentro de la zona inclinada, y la fase de movimiento (iv) incluye el desplazamiento de la bandeja de cartuchos en la zona plana. La guía de alineación puede incluir una pestaña vertical configurada para conectar con (a) una ranura en el bastidor de montaje, (b) el pasador de acoplamiento del bastidor de montaje, y (c) una muesca en la guía de alineación; la muesca está situada junto a la pestaña vertical, de tal forma que el método incluye además el paso de coordinar el traslado del bastidor de montaje y la bandeja de cartuchos antes de la etapa (iii).

35 El lector de cartuchos puede incluir además un mecanismo de cierre que consta de un pestillo giratorio con resorte, un primer pasador configurado para conectar con el cartucho de ensayo, un segundo pasador configurado para conectar con una muesca en el cartucho de ensayo, donde la etapa de inserción (i) incluye el desplazamiento del cartucho de ensayo hacia la bandeja de cartuchos para entrar en contacto con el primer pasador ocasionando que el pestillo gire y que el segundo pasador se acople a la muesca. En una forma de realización, el pestillo giratorio con resorte incluye un resorte y la etapa de inserción (i) incluye además provocar que el resorte resista la rotación del pestillo. Aún más, la etapa de inserción (i) incluye además reducir la resistencia del resorte en cuanto el segundo pasador se acople a la muesca. El pestillo puede incluir además una pestaña, y el mecanismo de cierre incluye además un sensor óptico, donde la pestaña se configura para cubrir el sensor óptico cuando el mecanismo de cierre está activado y la etapa de inserción (i) incluye además la detección de una señal óptica del sensor óptico para confirmar que el cartucho de ensayo está activado por el mecanismo de cierre.

45 El componente o los varios componentes del lector pueden incluir el conjunto de fotodiodos, y el conjunto de fotodiodos está formado por un bloque itinerante que incluye pasadores de posicionamiento que se extienden desde el bloque itinerante; los pasadores de posicionamiento están configurados para acoplar el movimiento del bastidor de montaje al movimiento lateral del bloque itinerante, en donde una o varias de las etapas del movimiento (iii) y (iv) constituyen además el desplazamiento del bastidor de montaje en coordinación con el bloque itinerante. Una o varias de las etapas del movimiento (iii) y (iv) pueden incluir además el acoplamiento del movimiento del bastidor de montaje al movimiento lateral del bloque itinerante. El conjunto de fotodiodos también puede incluir un componente de alineación para alinear al menos un fotodiodo con una zona en el cartucho de ensayo, y una o varias etapas de movimiento (iii) e (iv) incluyen además la alineación de al menos un fotodiodo con una zona del cartucho de ensayo. Es posible montar al menos un fotodiodo en el bloque itinerante, estando configurado el bloque itinerante para trasladarse horizontalmente a lo largo de un cilindro guía montado en el conjunto de fotodiodos, y la etapa del movimiento (iv) incluye además el traslado horizontal a lo largo del cilindro guía para alinear al menos un fotodiodo con la zona del cartucho de ensayo.

60 Además, el componente o los componentes del lector pueden incluir un mecanismo de ruptura de ampollas configurado para romper una ampolla dentro del cartucho de ensayo y el método incluye además la (v) ruptura de la ampolla dentro del cartucho de ensayo. El mecanismo de ruptura de ampollas puede incluir un elemento percutor acoplado a un resorte y el percutor se sostiene bajo una fuerza de resorte; el percutor, la etapa de ruptura (v) incluyen (i) la rotación del percutor alrededor de un eje del percutor, y (ii) la subida y bajada del percutor en relación con el cartucho de ensayo. El mecanismo de ruptura de ampollas puede incluir una gama de mecanismos de ruptura de ampollas y el cartucho de ensayo consta de una gama de ampollas, donde la etapa de ruptura (v) incluye la ruptura de la gama de ampollas en serie o en paralelo. La gama de mecanismos de ruptura de ampollas puede incluir una gama de elementos percutores. En una forma de realización, la gama de mecanismos de ruptura de

ampollas incluye un primer mecanismo de ruptura de ampollas y un segundo mecanismo de ruptura de ampollas, donde el primer mecanismo de ruptura de ampollas incluye un primer elemento percutor en comunicación con una primera leva sobre un eje de mando y el segundo mecanismo de ruptura de ampollas incluye un segundo elemento percutor en comunicación con una segunda leva en el eje de mando. La primera y la segunda leva pueden estar ubicadas en diferentes posiciones giratorias relativas en el mecanismo de ruptura de ampollas, y la primera y la segunda leva están configuradas para acoplar el primer y el segundo elemento percutor en diferentes momentos durante la rotación del eje de mando, donde la etapa de ruptura (v) incluye la ruptura en serie de la gama de ampollas. Alternativamente, la primera y la segunda leva están situadas en aproximadamente las mismas posiciones relativas de giro en el mecanismo de ruptura de ampollas, y la primera y la segunda leva están configuradas para acoplar el primer y el segundo elemento percutor aproximadamente al mismo tiempo durante la rotación del eje de mando, donde la etapa de ruptura (v) incluye la ruptura en serie de la gama de ampollas.

Breve descripción de los esquemas

- 15 La fig. 1a muestra una representación gráfica simplificada de un módulo de ensayo basado en cartucho.
- La fig. 1b muestra una forma de realización de un cartucho de ensayo con dos cámaras de detección y dos bancos de electrodos direccionables individualmente.
- 20 La fig. 1c muestra un conjunto desglosado de una forma de realización de una matriz de electrodos
- La fig. 2 es una representación gráfica de una matriz de electrodos en la cual las resistencias del cable eléctrico están adaptadas.
- 25 Las figs. 3a-3e muestran las diversas configuraciones de una matriz de electrodos para su uso en un sistema de estímulo por pares.
- Las figs. 3f-3g muestran dos posibles configuraciones de una matriz de electrodos empleando un único contraelectrodo común.
- 30 La fig. 4 representa la matriz de electrodos de la fig. 3a en una forma de realización de un cartucho de ensayo.
- 35 La fig. 5 es una imagen de electroquimioluminiscencia emitida desde una matriz de electrodos, donde uno de los electrodos tiene una burbuja de aire en la superficie del electrodo.
- Las figs. 6a y 6b son imágenes de electroquimioluminiscencia de matrices de electrodos que no han sido tratadas (fig. 6a) o que previamente han sido lavadas con un tensioactivo (fig. 6b).
- 40 La fig. 7a muestra el uso de un aparato de lavado localizado con tubos concéntricos.
- La fig. 7b es una vista transversal del aparato de lavado localizado, representado en la fig. 7a.
- 45 La fig. 8 es un gráfico de los ángulos de contacto de gotas de líquido sobre superficies de tinta de carbono y tinta dieléctrica como una función de la velocidad de dispensación.
- La fig. 9 es una representación esquemática de una forma de realización de un cartucho de ensayo que muestra diversos componentes de líquidos.
- 50 La fig. 10 muestra la red de fluidos conforme a la representación esquemática de la fig. 9.
- Las figs. 11a - 11c son vistas superior, inferior e isométrica, respectivamente, del cartucho de ensayo de la fig. 9; la fig. 11a muestra las redes de fluidos formadas en un lado del cartucho; la fig. 11b ilustra la red de fluidos formada en el otro lado del cartucho, y la fig. 11c proporciona una vista isométrica con líneas virtuales que ilustran toda la red de fluidos del cartucho como se ve en el cuerpo del cartucho.
- 55 La fig. 12 es una vista de la parte inferior del cartucho de ensayo de la fig. 9 que ilustra un diseño preferido para detectores de fluidos para detectar y vigilar el movimiento del líquido.
- 60 La fig. 13a es un plano de conjunto desglosado que ilustra el montaje laminar del cartucho de ensayo representado en la fig. 9.
- La fig. 13b es un dibujo detallado de la junta y la cubierta de la matriz de electrodos representada en la fig. 13a.

- La fig. 14a es una representación esquemática de una forma de realización de un cartucho de ensayo mostrando diversos componentes de fluidos.
- 5 La fig. 14b es un plano de conjunto desglosado que ilustra el montaje laminar del cartucho de ensayo de dos piezas representado en la fig.14a.
- La fig. 14c es un dibujo detallado de la junta y la cubierta de la matriz de electrodos representada en la fig. 14b.
- 10 La fig. 15a es una vista superior de la parte superior del componente del cartucho de ensayo representado en la fig. 14b.
- 15 Las figs. 16a y 16b son vistas superior e inferior, respectivamente, de la parte inferior del componente del cartucho de ensayo representado en la fig. 14b.
- 15 La fig. 17 es una vista de la parte inferior del cartucho de ensayo de la fig. 14b que ilustran un diseño preferido para detectores de fluidos para detectar y vigilar el movimiento del líquido.
- 20 Las figs. 18a y 18b son vistas isométricas superior e inferior, respectivamente, que representan la red de fluidos de conformidad con la representación esquemática de la fig. 14a.
- 25 La fig. 19 es una vista inferior del componente superior del cartucho de ensayo representado en la fig. 14b que muestra una forma de realización de filtros integrados.
- 25 La fig. 20 es una vista isométrica inferior de una forma de realización de un cartucho de ensayo que muestra filtros intercambiables.
- 30 La fig. 21 es una vista isométrica del cartucho del ensayo representado en la fig. 14b con ampollas de reactivo de ensayo insertadas en el mismo, y muestra una forma de realización de un mecanismo de liberación de reactivo de ensayo.
- 35 La fig. 22 ilustra una forma de realización con un conjunto de envases blíster para el goteo de reactivo de ensayo y un mecanismo (punzante) integrado de liberación de reactivo de ensayo.
- 40 La fig. 23 muestra una forma de realización de un lector de cartuchos que incorpora diversos subsistemas para realizar un ensayo predeterminado. El lector de cartuchos se representa para una forma de realización de un cartucho de ensayo.
- 45 La fig. 24 muestra una configuración de válvula preferida para el cartucho de ensayo representado en la fig. 14a.
- 45 La fig. 25 es la representación esquemática que se muestra en la fig. 14a representando la disposición de los componentes de fluidos y las ubicaciones de los detectores de líquido.
- 50 Las figs. 26a a 26c ilustran una manera preferida del funcionamiento del cartucho de ensayo representado en la fig. 25.
- 50 La fig. 27 es una vista transversal de una cámara de muestras con un puerto de ventilación integral dentro de la propia cámara.
- 55 La fig. 28 es una vista transversal de una forma de realización de una cámara de muestras para la extracción de analitos de una matriz sólida o que contiene sólidos.
- 55 La fig. 29 es una vista transversal de una forma de realización alternativa de una cámara de muestras para la extracción de analitos de una matriz sólida o que contiene sólidos mediante la incorporación de elementos de focalización de fuerzas.
- 60 La fig. 30 es una vista transversal de una forma de realización de una cámara de muestras para la extracción de analitos de una matriz sólida o que contiene sólidos y que incorpora una cámara de muestras de dos zonas o compuesta.
- 60 La fig. 31 es una vista en sección transversal que muestra una forma de realización de una cámara atrapaburbujas.
- 65 La fig. 32 es una representación esquemática de otra forma de realización de un cartucho de ensayo que muestra diversos componentes de fluidos.

La fig. 33 es un plano de conjunto desglosado que ilustra el ensamblaje laminar para un cartucho de ensayo de dos piezas para extracciones, de conformidad con el esquema representado en la fig. 32.

- 5 La fig. 34 muestra una vista seccionada y desglosada de un diseño preferido para un cartucho lector.
- Las figs. 35(a)-(b) muestran una forma de realización de una tapa para una cámara de muestras de un cartucho.
- 10 La fig. 36 muestra un diseño de soporte de 3 puntos para sostener las ampollas en un cartucho.
- Las figs. 37(a)-(b) muestran una representación esquemática de un diseño de fluidos para una forma de realización de un cartucho.
- 15 Las figs. 38(a)-(e) muestran una forma de realización de una cámara de recogida de líquidos.
- La fig. 39 muestra una configuración de empalmes en el mecanismo de fluidos de un cartucho.
- 20 La fig. 40 muestra una resistencia hidrodinámica de la ruta de flujo de líquido adaptada.
- La fig. 41(a) es una representación gráfica en color que muestra el efecto de las dimensiones del canal de resistencia hidrodinámica. La fig. 41(b) es una versión en blanco y negro del gráfico en color representado en la fig. 41(a).
- 25 La fig. 42 muestra una forma de realización de un mecanismo de ruptura de ampollas para la ruptura de ampollas de vidrio en un cartucho.
- Las figs. 43(a)-(g) muestran vistas seccionadas de una forma de realización del diseño de un lector de cartuchos con una bandeja de cartuchos en su posición más extendida y en su posición más retraída (figs. en color 43(a) y (b), respectivamente). Las figs. 43(c)-(e) muestran representaciones esquemáticas de los mecanismos para la inserción y la colocación correcta de la bandeja de cartuchos dentro de este diseño de lector. Las figs. 43(f) y (g) son representaciones en blanco y negro de las figs. 43(a) y (b).
- 30 Las figs. 44(a)-(d) muestran vistas superiores de una forma de realización de una bandeja de cartuchos para albergar un cartucho en un lector de cartuchos. Las vistas que se proporcionan muestran (a) un cartucho parcialmente insertado en la bandeja y (b) un cartucho totalmente asentado en la bandeja. Las figs. 44(c) y (d) son representaciones en blanco y negro de las figs. 44(a) y (b).
- 35 Las figs. 45 (a)-(b) muestran una forma de realización de un mecanismo de soporte para un fotodiodo dentro de un lector de cartuchos y para alinear el fotodiodo con los elementos de la matriz o con electrodos dentro del cartucho.
- 40 Las figs. 46(a)-(g) muestran una representación esquemática del funcionamiento del mecanismo de alineación del fotodiodo de la fig. 45.
- 45 Las figs. 47(a)-(c) ilustran una forma de realización de una cámara de muestras que incluye un rebosadero y una ventanilla indicadora del volumen de muestra.
- 50 Descripción detallada
- 55 La invención, así como otros objetos, características y ventajas de la misma, se entenderá mejor a partir de la siguiente descripción detallada de ciertas formas de realización preferidas. Cuando se utilizan los términos «medir» o «medida» en este documento, se entiende la medición cuantitativa y cualitativa que abarca las medidas realizadas para una variedad de propósitos, incluyendo, pero no estando limitado a, la detección de la presencia de una cosa o propiedad, la medida de la cantidad de una cosa o propiedad, y/o la identificación de una cosa o propiedad en una muestra. Salvo que se indique lo contrario en este documento, los términos científicos y técnicos utilizados en relación con la presente invención, tendrán los significados que comúnmente entienden los expertos en la materia. Además, a menos que sea requerido por el contexto, los términos en singular incluirán las pluralidades y los términos en plural deberán incluir el singular. Los artículos «un» y «una» se emplean aquí para referirse a uno o a varios (es decir, al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, «un elemento» significa un elemento o más de un elemento.
- 60 La presente descripción, no de acuerdo con la invención, incluye aparatos, electrodos, matrices de electrodos, sistemas, componentes del sistema, kits, reactivos y métodos para realizar uno o varios ensayos sobre una muestra.
- 65 La descripción, no de acuerdo con la invención, incluye módulos de ensayo (por ejemplo, cartuchos de ensayo, placas de ensayo, etc.) con una o varias celdas de ensayo (por ejemplo, pocillos, compartimentos, cámaras,

conductos, celdas de flujo, etc.) que pueden constar de uno o varios dominios de ensayo (por ejemplo, localizaciones diferenciadas en un ensayo de la superficie celular, donde se produce una reacción de ensayo y/o donde se induce una señal dependiente de un ensayo, como una señal electroquímica o preferiblemente una señal de luminiscencia inducida por un electrodo) para llevar a cabo una gama de mediciones de ensayo.

5 En ciertas formas de realización preferidas, los dominios de ensayo están equipados con electrodos de ensayo (preferiblemente, una matriz de electrodos de ensayo, siendo lo más preferible una matriz unidimensional de electrodos de ensayo) con el fin de permitir la realización de los ensayos basados en mediciones electroquímicas o mediciones de luminiscencia inducida por electrodos. Los dominios de ensayo se definen, opcionalmente, por una 10 capa dieléctrica depositada sobre los electrodos. Los módulos de ensayo, preferiblemente, tienen una o varias características que hacen que sean adecuados para su uso en las mediciones clínicas en los «puntos de atención», por ejemplo, su tamaño pequeño, bajo coste, disponibilidad, detección multiplexada, facilidad de uso, etc. Los métodos y aparatos de la descripción, no de acuerdo con la invención, permiten que estos beneficios puedan 15 lograrse manteniendo el funcionamiento de los tradicionales instrumentos de procesamiento por lotes del tipo que se utiliza normalmente en el laboratorio clínico central.

El módulo de ensayo puede incluir los componentes electrónicos necesarios y/o componentes mecánicos activos para llevar a cabo un ensayo de medición, por ejemplo, una o varias fuentes de energía eléctrica, amperímetros, 20 potenciómetros, fotodetectores, monitores o controladores de temperatura, bombas, válvulas, etc. Preferiblemente, todos o algunos de los medios electrónicos y/o componentes mecánicos activos están organizados dentro de un lector del módulo de ensayo independiente. El lector también tendría las conexiones eléctricas, de fluidos y/o ópticas pertinentes al módulo de ensayo para llevar a cabo un ensayo en el módulo de ensayo. Mediante el uso de esta modalidad, el módulo de ensayo puede diseñarse para ser de bajo coste y desecharable, mientras que el lector (que posee los componentes más costosos y complejos) es reutilizable. Un procedimiento de ensayo preferido que utiliza 25 un módulo de ensayo y un lector de ensayo incluiría la inserción del cartucho en el lector, estableciendo las conexiones eléctricas, de fluidos y/o ópticas pertinentes al cartucho (haciendo uso de conectores eléctricos, de fluidos y/u ópticos en el cartucho y en el lector), y la realización de un ensayo en el cartucho. Preferiblemente, se introduce la muestra en el cartucho antes de insertar el cartucho en el lector. El ensayo también puede implicar la 30 adición de uno o varios reactivos de ensayo al cartucho; preferiblemente, uno o varios reactivos de ensayo están almacenados en el cartucho en forma húmeda o seca.

La descripción, no de acuerdo con la invención, también incluye métodos de preparación de los módulos de ensayo, que incluyen los métodos para la preparación de matrices de electrodos y la formación de dominios de ensayo en 35 estas matrices de electrodos. La descripción, no de acuerdo con la invención, también incluye métodos para el lavado de los dominios de ensayo para eliminar los reactivos que no se hayan unido, sin permitir que estos reactivos interactúen con otras superficies en el módulo de ensayo.

Una forma de realización preferida de la descripción, no de acuerdo con la invención, comprende un cartucho de ensayo compuesto por una o varias celdas de flujo de ensayo. La celda de flujo del ensayo consta de una cámara 40 con una entrada de líquido y una salida de líquido y una vía entre la entrada y la salida. Una matriz de electrodos está modelada sobre la superficie interior de la cámara. Cuando se utiliza en ensayos de luminiscencia inducida por electrodo, la superficie de la cámara interna opuesta a la matriz de electrodos es, preferiblemente, translúcida para permitir la detección de la luz generada en los electrodos. Uno o varios de los electrodos incluyen reactivos de ensayo inmovilizados en el electrodo. Estos dominios de ensayo se utilizan para llevar a cabo reacciones de ensayo 45 que se detectan mediante el electrodo para inducir una señal dependiente del ensayo como una señal electroquímica o, preferiblemente, una señal de luminiscencia inducida por el electrodo y la detección de la señal. Preferiblemente, estos reactivos de ensayo están colocados en uno o varios dominios de ensayo definidos por aberturas en la capa dieléctrica depositada sobre el electrodo. Opcionalmente, la entrada del líquido incluye una 50 línea de entrada de líquido que posee sensores para detectar la presencia de líquido en la tubería de entrada de líquido.

Preferiblemente, los electrodos en el cartucho de ensayo están estructurados en una matriz unidimensional a lo largo de la ruta del fluido. La matriz y/o la ruta de fluido están, preferiblemente, en disposición lineal, aunque también 55 pueden emplearse otras formas (por ejemplo, arcos, curvas, zig-zags, etc.). En ese tipo de configuración, es conveniente que se elija el área activa de los electrodos y la relación de aspecto de la ruta de fluido para garantizar que los dominios de ensayo sobre el electrodo muestren eficientemente los analitos en el líquido que pasa a través de la celda de flujo. Más preferiblemente, la longitud de la ruta de flujo a lo largo de la dirección del flujo es mayor que la anchura perpendicular a la dirección de flujo; el área activa del electrodo ocupa una parte significativa de la anchura de la ruta de flujo (preferiblemente superior al 60 %, más preferiblemente superior al 80 %), y/o la altura de 60 la ruta de flujo por encima de los electrodos es pequeña en comparación con la anchura de la ruta de flujo. Sorprendentemente, se ha constatado que se puede reducir la superficie de los contraelectrodos especializados en la celda de flujo considerablemente sin afectar a la eficacia del ensayo reutilizando los electrodos utilizados como electrodos de trabajo (por ejemplo, electrodos de trabajo con dominios de unión utilizados para ensayos de luminiscencia inducida por electrodos); estos electrodos se reutilizan como contraelectrodos para medir una señal dependiente del ensayo de otro electrodo de trabajo, preferiblemente adyacente. En una forma de realización 65 preferida, los electrodos se activan por pares a lo largo de la ruta de la celda de flujo; los electrodos interiores en la

matriz de electrodos unidimensional se utilizan como electrodos de trabajo para inducir una señal dependiente del ensayo y a continuación como contraelectrodos para inducir una señal dependiente del ensayo en un electrodo adyacente.

5 El cartucho de ensayo de la descripción, no de acuerdo con la invención, puede comprender una gama de celdas de flujo o cámaras de detección. En ciertas formas de realización preferidas, la celda de flujo puede abarcar los mismos dominios de ensayo o tener al menos algunos dominios de ensayo que comparten la misma especificidad para los analitos de interés. En estas formas de realización, es posible utilizar la gama de las celdas de flujo para analizar una gama de muestras diferentes o para comparar las muestras que han sido tratadas previamente de diferentes 10 maneras. Alternativamente, una de las celdas de flujo puede ser una celda de flujo que se utiliza para analizar una muestra de control y otra celda de flujo puede ser una celda de flujo que se utiliza para analizar una muestra de ensayo. La muestra de control puede ser una muestra de control completamente predefinida o puede ser una mezcla que incluya la muestra de ensayo pero que esté dotada con analitos de interés añadidos para permitir la calibración de los ensayos por el método de adiciones estándar. En una forma de realización alternativa, el cartucho 15 de ensayo tiene al menos dos celdas de flujo con dominios de ensayo para dos paneles de ensayo diferentes. Ventajosamente, estos cartuchos pueden utilizarse por separado para realizar reacciones de ensayo que son incompatibles entre sí.

20 La fig. 1a muestra un esquema simplificado de un sistema de detección bioquímica 100 basado en cartucho, conforme a una forma de realización de la descripción, no de acuerdo con la invención.

Preferiblemente, una carcasa de sistema, por ejemplo, el lector de cartuchos 105, incluiría un detector óptico 110 y sería adaptado y configurado para acoger y situar el cartucho 115 y/o el detector óptico 110 para su procesamiento. 25 El sistema podría contener, preferiblemente subsistemas de apoyo (no se muestran) que pueden incluir una o varias de las siguientes opciones: un subsistema de almacenamiento para el almacenamiento de reactivos de ensayo/materiales fungibles y/o residuos; un subsistema de adquisición de muestras/preprocesamiento/almacenamiento para la manipulación de la muestra; un subsistema de manejo de líquidos para la manipulación de reactivos, muestras, desechos, etc. y para proporcionar líquidos a la cámara de detección 120 a través de una línea de entrada de líquido 125; un subsistema eléctrico para establecer contacto con 30 los contactos eléctricos del cartucho 130 y suministrar energía eléctrica a los electrodos 135, 136, 137; y un subsistema de control para controlar y coordinar el funcionamiento del sistema y los subsistemas, y para la adquisición, el procesamiento y el almacenamiento de la señal de detección óptica.

35 Como se ilustra, una forma de realización preferida utilizaría una matriz de electrodos que tenga preferiblemente al menos un contraelectrodo específico 135, un electrodo de doble función 136 y otro electrodo específico de trabajo 137. Esta configuración preferida utilizaría una combinación de estimulación por parejas (se explica en detalle a continuación), en la que se pueda reutilizar el electrodo de doble función. La fig. 1b muestra en detalle una posible forma de realización para la parte de detección de un dispositivo basado en cartuchos 150. Como se indica, cada 40 una de las dos cámaras de detección 155,156 contiene un banco de nueve electrodos direccionables individualmente 157, 158. Hay dos líneas de entrada de líquido representadas 160, 161 para la introducción de muestras, reactivos y/o soluciones de lavado en las cámaras de detección y dos bancos de contactos eléctricos 165, 166 con cables eléctricos correspondientes 170, 171 hacia los electrodos 157, 158. También se muestran en esta forma de realización preferida dos bancos de sensores de impedancia 172, 173 que pueden utilizarse para la 45 detección de líquido (por ejemplo, muestras, reactivos, lavados, solución amortiguadora, etc.) y/o la discriminación de líquidos (que diferencia, por ejemplo, entre muestras, reactivos, lavado, solución amortiguadora, etc., y/o el tipo de muestra como sangre entera, plasma, mucosas, etc.).

50 La fig. 1c es un esquema de montaje de una forma de realización preferida que muestra el conjunto de componentes del cartucho 178 que forman una matriz de electrodos 176. Conforme a una forma de realización, se aplica la matriz de electrodos 176 (preferiblemente, formada por tinta de carbono) sobre la capa de sustrato 175 conformando el electrodo 180, el cable eléctrico 181 y las secciones de los contactos eléctricos 182. Preferiblemente se aplica una capa dieléctrica 177 sobre la capa de electrodos para definir los dominios de ensayo 190 y los sensores de impedancia 191. Alternativamente, se pueden llevar los contactos eléctricos 182 al lado opuesto del sustrato y conectarlos a los electrodos 180 o cables eléctricos 181 mediante orificios pasantes a través del sustrato. Más 55 adelante, se explican más detalladamente los métodos de aplicación de las capas de carbono y capas dieléctricas, así como diversos materiales alternativos.

60 El componente de cartucho 178 se acopla, preferiblemente, con un segundo componente de cartucho. El segundo componente del cartucho tiene canales o aberturas dispuestas en la superficie de contacto, de modo que cuando se acopla al componente de cartucho 178 actúa para formar cámaras de detección sobre las matrices de electrodos (por ej., como se ilustra con las cámaras de detección 155 y 156 en la fig. 1b y la cámara de detección 120 en la fig. 1a). Preferiblemente, el segundo componente del cartucho tiene canales en la superficie acoplada que forman las celdas de flujo sobre los electrodos cuando está acoplado al componente 178 (las celdas de flujo tienen una superficie definida por el componente 178 y una superficie opuesta y pocillos definidos por el segundo componente. 65 Los canales también pueden utilizarse para formar otras rutas de flujos como las líneas de entrada y de salida de líquidos de la celda de flujo. Estos canales pueden, por ejemplo, ser moldeados o cortados en el segundo

componente. Alternativamente, las paredes de la celda de flujo u otras rutas de fluidos pueden ser definidas por un material de junta (preferiblemente, una cinta adhesiva de doble cara) aplicado entre el componente 178 y el segundo componente del cartucho. Alternativamente, el segundo componente tiene aberturas en la superficie que forman pocillos cuando está acoplado al componente 178.

5 En una forma de realización preferida de la invención, un cartucho de ensayo posee pocos o ningún componente mecánico o electrónico activo. Cuando se lleva a cabo un ensayo, se introducen estos cartuchos de ensayo en un lector de cartuchos que proporciona estas funciones. Por ejemplo, un lector puede estar dotado de circuitos electrónicos para aplicar energía eléctrica a los electrodos de ensayo, y para medir los potenciales o corrientes resultantes en los electrodos de ensayo. El lector puede tener uno o varios fotodetectores para medir la luminiscencia generada en los electrodos de ensayo. Los fotodetectores que pueden utilizarse incluyen, pero no están limitados a tubos fotomultiplicadores, fotodioides de avalancha, fotodioides, matrices de fotodioides, chips CCD, chips CMOS, película. El fotodetector puede estar integrado dentro de un sistema de detección óptica que también incluye lentes, filtros, obturadores, aberturas, fibras ópticas, guías de luz, etc. El lector también puede tener bombas, válvulas, calefactores, sensores, etc. para proporcionar líquidos al cartucho, la verificación de la presencia de líquidos y/o para mantener los líquidos a una temperatura apropiada y controlada. El lector puede usarse para almacenar y proporcionar reactivos de ensayo, ya sea dentro del propio lector o de frascos de reactivo de ensayo independientes o de un dispositivo de almacenamiento de reactivo de ensayo. El lector puede también tener sistemas de manipulación de los cartuchos como controladores de movimiento para mover el cartucho hacia dentro y fuera del lector. El lector puede tener un microprocesador para controlar los subsistemas mecánicos y/o electrónicos, analizar los datos adquiridos y/o proporcionar una interfaz gráfica de usuario (IGU). El lector de cartuchos también puede incluir conectores eléctricos, mecánicos y/u ópticos para conectar el cartucho.

10

15

20

25

30

Un aspecto de la descripción, no de acuerdo con la invención, se refiere a los módulos de ensayo que emplean electrodos, la inmovilización de los reactivos de ensayo sobre estos electrodos, y su uso en ensayos, preferiblemente ensayos de luminiscencia inducidos por el electrodo. La solicitud de patente estadounidense n.º 10/185,274, presentada el 28 de junio de 2002, contiene una serie de ejemplos de electrodos y materiales dieléctricos, modelos de electrodos, técnicas de patronaje y técnicas de inmovilización que están adaptadas para su uso en ensayos de luminiscencia inducidos por electrodos y ensayos adecuados para su uso con los módulos de ensayo de la descripción, no de acuerdo con la invención.

35

40

45

Los electrodos en la presente descripción están formados, preferiblemente, de un material conductor. El electrodo puede contener un metal, como oro, plata, platino, níquel, acero, iridio, cobre, aluminio, una aleación conductora, o similares. También pueden contener metales recubiertos de óxido (por ejemplo, aluminio revestido óxido de zigzags de aluminio). Los electrodos pueden contener conductores no metálicos tales como formas conductoras de carbono molecular. Los electrodos también pueden estar formados por materiales semiconductores (por ejemplo, silicio, germanio) o películas semiconductoras, tales como películas de óxido de indio y estaño (ITO), óxido de antimonio y estaño (ATO) y similares. Los electrodos también pueden estar formados por mezclas de materiales que contengan compuestos conductores, tintas, pastas, mezclas de polímeros, compuestos de metal/no-metal y similares. Estas mezclas pueden incluir materiales conductores o semiconductores mezclados con materiales no conductores. Preferiblemente, los materiales de electrodo están sustancialmente exentos de materiales basados en silicona.

Los electrodos (en particular los electrodos de trabajo) que se utilizan en los módulos de ensayo de la descripción, no de acuerdo con la invención, son ventajosamente capaces de inducir la luminiscencia de especies luminiscentes. Los materiales preferibles para los electrodos de trabajo son materiales capaces de inducir electroquimioluminiscencia de rutenio-trisé bipiridina en presencia de alquilaminas terciarias (como la tripropilamina). Los ejemplos de estos materiales preferidos incluyen platino, oro, ITO, carbono, compuestos de polímero de carbono y polímeros conductores.

50 Preferiblemente, los electrodos se componen de materiales a base de carbono tales como carbono, carbono negro, carbono grafitico, nanotubos de carbono, fibras de carbono, y mezclas de los mismos. Ventajosamente pueden estar formados por polímeros de carbono conductores, partículas conductoras dispersas en una matriz (por ejemplo, tintas de carbono, pastas de carbono, tintas metálicas), y/o los polímeros conductores. Una forma de realización preferida de la descripción, no de acuerdo con la invención, es un módulo de ensayo, preferiblemente un cartucho de ensayo con electrodos (por ejemplo, electrodos de trabajo y/o contraelectrodos) que constan de carbono, preferiblemente capas de carbono, más preferiblemente capas serigrafiadas de tintas de carbono. Algunas tintas de carbono convenientes incluyen materiales producidos por Acheson Colloids Co. (p. ej., Acheson 440B, 423ss, PF407A, PF407C, PM-003A, 30D071, 435A, Electrodag 505SS, and Aquadag™), E. I. Du Pont de Nemours and Co. (p. ej., Dupont 7105, 7101, 7102, 7103, 7144, 7082, 7861D, E100735 62B y CB050), Advanced Conductive Materials (p. ej., PTF 20), Gwen Electronics Materials (p. ej., C2000802D2) y Conductive Compounds Inc (p. ej., C-100), y Ercon Inc. (p. ej., G-451, G-449 y 150401).

65 En otra forma de realización preferida, los electrodos de la descripción, no de acuerdo con la invención, constan de fibras de carbono. Los términos «fibrillas de carbono», «nanotubos de carbono», nanotubos de pared simple (SWNT, por sus siglas en inglés), nanotubos de carbono de pared múltiple (MWNT, por sus siglas en inglés), «nanotubos grafiticos», «fibrillas grafiticas», «túbulos de carbono», «fibrillas» y «buckeytubes» (nanotubos de carbono), todos

ellos términos que pueden utilizarse para describir una amplia clase de materiales de carbono (véase Dresselhaus, M.S.; Dresselhaus, G.; Eklund, P.C.; "Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes", Academic Press, San Diego, CA., 1996, y las referencias allí citadas). Los términos «fibrillas» y «fibrillas de carbono» se utilizan a lo largo de esta solicitud para incluir esta amplia clase de materiales a base de carbono. Las fibrillas de carbono individuales tal como se dan a conocer en las patentes estadounidenses n.º 4,663,230; 5,165,909 y 5,171,560 son especialmente ventajosas. Pueden tener diámetros que oscilan entre 3,5 nm y 70 nm y una longitud superior a 10^2 veces el diámetro, y poseen una zona exterior de varias capas, esencialmente continuas, de átomos de carbono organizados y una zona nuclear interna diferenciada. Simplemente con fines ilustrativos, un diámetro típico de una fibrilla de carbono puede variar aproximadamente entre 7 y 25 nm y un rango típico de las longitudes pueden variar entre 1000 nm y 10 000 nm. Las fibrillas de carbono también pueden tener una sola capa de átomos de carbono y diámetros en el rango de 1 nm - 2 nm. Los electrodos de la descripción, no de acuerdo con la invención, pueden incluir una o varias fibrillas de carbono, por ejemplo, en forma de una estera fibrilar, un agregado fibrilar, una tinta fibrilar, un compuesto fibrilar (por ejemplo, un compuesto conductor que incluye fibrillas dispersas en un aceite, pasta, cerámica, polímero, etc.).

Los electrodos pueden estar formados en estructuras mediante un proceso de moldeo (es decir, durante la fabricación de los electrodos), mediante deposición estructurada, impresión estructurada, mediante grabado selectivo, a través de un proceso de corte como el troquelado o el taladrado láser, y/o por técnicas conocidas en materia de la microfabricación electrónica. Los electrodos pueden ser autosustentables o pueden ser sostenidos sobre otro material, por ejemplo, películas, láminas de plástico, películas adhesivas, papel, respaldos, mallas, fieltros, materiales fibrosos, geles, sólidos (por ejemplo, metales, cerámicas, vidrios), elastómeros, líquidos, cintas, adhesivos, otros electrodos, materiales dieléctricos y similares. El soporte o sustrato, puede ser rígido o flexible, plano o deformado, transparente, translúcido, opaco o reflectante. Preferiblemente, el soporte incluye una lámina lisa de plástico como acetato o poliestireno. Los materiales de electrodo pueden aplicarse a un soporte mediante una variedad de procesos de recubrimiento y de deposición, conocidos en la materia como pintura, recubrimiento por rociado, serigrafía, impresión por chorro de tinta, impresión láser, depósito por centrifugado, recubrimiento por evaporación, deposición química de vapor, etc. Es posible modelar los electrodos compatibles mediante técnicas fotolitográficas (por ejemplo, técnicas establecidas en la microfabricación de electrónica), por grabado selectivo y/o por deposición selectiva (por ejemplo, por evaporación o procesos de deposición química de vapor llevados a cabo a través de una máscara). En una forma de realización preferida, los electrodos constan de películas extruidas de compuestos de carbono/polímeros conductores. En otra forma de realización preferida, los electrodos constan de una tinta conductora serigrafiada depositada sobre un sustrato. Los electrodos pueden ser sostenidos por otro material conductor. En algunas aplicaciones, los electrodos de tinta de carbono serigrafiada se imprimen sobre una capa de tinta metálica conductora (por ejemplo, tinta de plata) para mejorar la conductividad de los electrodos. Preferiblemente, permite un diseño miniaturizado en los cartuchos de ensayo el uso de electrodos con cables de electrodos impresos cortos (preferiblemente inferiores a 1,5 cm, más preferiblemente inferiores a 1,0 cm) que son relativamente similares en longitud. Manteniendo los cables cortos, es posible utilizar electrodos de carbono serigrafiados sin una capa de metal conductor subyacente, como una capa de plata.

Según una forma de realización preferida de la descripción, no de acuerdo con la invención, la superficie del electrodo (preferiblemente la superficie de un electrodo de trabajo de un módulo de ensayo o placa de ensayo) está ligada por una superficie dieléctrica, la superficie dieléctrica sube o baja (preferiblemente sube) y/o es de diferente hidrofobicidad (preferiblemente, más hidrofóbica) que la superficie del electrodo. Preferiblemente, el límite dieléctrico es mayor, en relación a la superficie del electrodo, en 0,5-100 micrómetros, o más preferiblemente en 2-30 micrómetros, o siendo lo más preferible en más de 8-12 micrómetros. Incluso más preferiblemente, el límite dieléctrico posee un borde claramente definido (es decir, proporciona un muro limítrofe empinado y/o un ángulo agudo en la interfase entre el electrodo y el límite dieléctrico).

Preferiblemente, la superficie del primer electrodo tiene un ángulo de contacto avanzante para agua 10 grados menos a la superficie dieléctrica, preferiblemente 15 grados menos, más preferiblemente 20 grados menos, más preferiblemente 30 grados menos, incluso más preferiblemente 40 grados menos, y lo más preferiblemente 50 grados menos. Una de las ventajas de tener una superficie dieléctrica elevada y/o más hidrofóbica con respecto a la superficie del electrodo se encuentra en el proceso de deposición de reactivos donde puede utilizarse el límite dieléctrico para confinar un reactivo dentro de los límites de la superficie del electrodo. En particular, tener un borde claramente definido con un muro limítrofe empinado y/o un ángulo agudo en la interfaz entre el electrodo y el límite dieléctrico es especialmente conveniente para la «fijación» de gotas de solución y confinarlas en la superficie del electrodo. En una forma de realización especialmente preferida de la descripción, no de acuerdo con la invención, la frontera dieléctrica está formada por la impresión de tinta dieléctrica estructurada sobre y/o alrededor del electrodo, y el modelo está diseñado para exponer uno o varios dominios de ensayo sobre el electrodo.

Los electrodos pueden modificarse mediante tratamientos químicos o mecánicos para mejorar la inmovilización de los reactivos. Es posible tratar la superficie con el objetivo de introducir grupos funcionales para la inmovilización de los reactivos o realzar sus propiedades de adsorción. El tratamiento de la superficie también se puede utilizar para influir en las propiedades de la superficie del electrodo, por ejemplo, la difusión de agua sobre la superficie o la cinética de los procesos electroquímicos en la superficie del electrodo. Las técnicas que pueden emplearse incluyen la exposición a la radiación electromagnética, a la radiación ionizante, a plasmas o reactivos químicos como agentes

oxidantes, electrófilos, nucleófilos, reductores, ácidos fuertes, bases fuertes y/o combinaciones de los mismos. Los tratamientos que dejan marcas en uno o varios componentes de los electrodos pueden ser particularmente beneficiosos, ya que aumentan la rugosidad y por lo tanto la superficie de los electrodos. En el caso de electrodos mixtos con partículas o fibras conductoras (por ejemplo, partículas o fibrillas de carbono) en una matriz polimérica o sustancia aglutinante, puede emplearse el grabado selectivo del polímero para exponer las partículas o fibras conductoras.

Una forma de realización particularmente conveniente es la modificación del electrodo, y de forma más amplia, un material incorporado en la presente descripción, no de acuerdo con la invención, por un tratamiento con plasma, concretamente un plasma de baja temperatura, que también se denomina descarga luminiscente. El tratamiento se lleva a cabo con el fin de alterar las características de la superficie de los electrodos que entran en contacto con el plasma durante el tratamiento. El tratamiento de plasma puede cambiar, por ejemplo, las propiedades físicas, la composición química o las propiedades fisicoquímicas en la superficie del electrodo. Estos cambios pueden, por ejemplo, facilitar la inmovilización de los reactivos, reducir contaminantes, mejorar la adherencia de otros materiales, alterar la humectabilidad de la superficie, facilitar la deposición de materiales, crear patrones y/o mejorar la uniformidad. Ejemplos de plasmas convenientes incluyen el oxígeno, el nitrógeno, el argón, el amoniaco, el hidrógeno, los fluorocarbonos, el agua y combinaciones de los mismos. Los plasmas de oxígeno son especialmente preferidos para la exposición de partículas de carbono en materiales compuestos de polímero de carbono. También se pueden utilizar los plasmas de oxígeno para introducir ácidos carboxílicos u otra funcionalidad de carbono oxidado en carbonos o materiales orgánicos (estos pueden ser activados, por ejemplo, como ésteres activos o cloruros de acilo) para permitir el acoplamiento de los reactivos. Análogamente, pueden utilizarse los plasmas que contienen amoniaco para introducir los grupos amino para su uso en el acoplamiento a los reactivos de ensayo.

El tratamiento de las superficies de los electrodos puede ser conveniente para mejorar o facilitar la inmovilización, cambiar las propiedades humectantes del electrodo, aumentar la superficie, aumentar la capacidad de unión para la inmovilización de los reactivos (p. ej., lípidos, proteínas o capas de lípidos/proteínas) o la unión de los analitos, y/o para alterar la cinética de las reacciones electroquímicas en el electrodo. En algunas aplicaciones, sin embargo, puede ser preferible utilizar electrodos no tratados. Por ejemplo, hemos hallado que es conveniente grabar electrodos de tinta de carbono antes de la inmovilización cuando la aplicación requiere un amplio rango dinámico y, por lo tanto, una alta capacidad de unión por área de electrodo. Hemos descubierto que el grabado oxidativo (por ejemplo, el grabado por plasma de oxígeno) tiene ventajas adicionales en que tanto el potencial de oxidación de la tripropilamina (TPA) como el ángulo de contacto de agua se reducen con respecto a la tinta no grabada. El bajo ángulo de contacto del agua permite que los reactivos sean adsorvidos en el electrodo mediante la aplicación de los reactivos en un pequeño volumen de solución amortiguadora acuosa y permitiendo que el pequeño volumen se extienda uniformemente sobre la superficie del electrodo. Sorprendentemente, hemos constatado que también se pueden llevar a cabo excelentes ensayos sobre electrodos de tinta de carbono no grabados, a pesar de la presencia de aglutinantes poliméricos en la tinta. De hecho, en algunas de las aplicaciones que requieran una alta sensibilidad o índices bajos de uniones inespecíficas es preferible utilizar electrodos de tinta de carbono no grabados para minimizar la superficie de carbono expuesta y, por lo tanto, minimizar las señales de fondo y la pérdida de reactivos de las uniones inespecíficas de los reactivos al carbono expuesto. Dependiendo de la tinta que se utilice, así como del proceso para aplicar la tinta, es posible que la superficie del electrodo no sea fácilmente humectable por soluciones acuosas. Hemos descubierto que podemos compensar la baja humectabilidad de los electrodos durante la adsorción de los reactivos mediante la adición de bajas concentraciones de detergentes no iónicos a las soluciones de reactivo a fin de facilitar la difusión de las soluciones sobre la superficie del electrodo. Una extensión uniforme es especialmente importante durante la inmovilización de un reactivo proveniente de un pequeño volumen de solución. Por ejemplo, hemos constatado que la adición de Triton X-100® al 0,005-0,04 % permite la difusión de las soluciones proteicas sobre superficies de tinta de carbono no grabadas sin afectar a la adsorción de la proteína al electrodo y alterar la capacidad de una película dieléctrica aplicada sobre o adyacente al electrodo (preferiblemente, una película dieléctrica serigrafiada con un espesor de 0,5-100 micrómetros, o más preferiblemente 2-30 micrómetros, o lo más preferiblemente 8-12 micrómetros y tener un borde nítidamente definido) para limitar los líquidos a la superficie del electrodo. Preferiblemente, cuando se utilizan los detergentes no iónicos como el Triton X-100® para facilitar la difusión de los reactivos (por ejemplo, reactivos de captura) en electrodos serigrafiados no grabados (es decir para permitir la inmovilización de los reactivos), se deja que se sequen las soluciones que contienen los reactivos en la superficie del electrodo. Se ha constatado que esta etapa de secado mejora considerablemente la eficacia y la reproducibilidad del proceso de inmovilización.

La eficacia de la inmovilización de los reactivos sobre electrodos de carbono, especialmente electrodos de tinta de carbono no grabados pueden exhibir cierta variabilidad debido a diferentes niveles de contaminación en la superficie de los electrodos. Este efecto es particularmente pronunciado cuando se utilizan ciertas tintas dieléctricas para formar los dominios de ensayo de los electrodos. Hemos descubierto que podemos mejorar el rendimiento de la inmovilización y disminuir la variabilidad mediante un lavado previo de las superficies de los electrodos, preferiblemente con una solución de un agente tensioactivo.

Se constató la contaminación de los electrodos de tinta de carbono con ciertas tintas dieléctricas mediante una evaluación cuantitativa de las propiedades de humectación de la superficie de los electrodos midiendo el diámetro de contacto, donde un mayor diámetro de contacto indica mejores propiedades de humectación. En la tabla 1 se

muestra una comparación de tres superficies de carbono alternativas con capas dieléctricas diferentes. Como muestran los datos de la tabla 1, el lavado de las superficies de los electrodos puede aumentar significativamente las propiedades humectantes (diámetro de contacto) de las superficies de carbono 451 que entran en contacto con el dieléctrico (presumiblemente por eliminar la contaminación de la superficie del electrodo asociada a la impresión del dieléctrico 451, por ejemplo, la migración de componentes de la tinta del dieléctrico a la superficie del electrodo).

5 Tabla 1. Comparación de los diámetros de contacto sobre superficies de electrodos de carbono para tres materiales dieléctricos distintos (media 50 nl de diámetro de la gota de agua a 400 μ s de tiempo abierto)

		Diámetro de contacto en pulgadas *
10	<u>Superficie</u>	
	Ningún tratamiento previo:	
	Carbono con dieléctrico 451	0,0366
	Carbono con dieléctrico Nazdar	0,0461
	Carbono con dieléctrico PD039A	0,0457
15	Con tratamiento previo:	
	Carbono con dieléctrico 451	0,0438
	Carbono con dieléctrico Nazdar	0,0463
	Carbono con dieléctrico PD039A	0,0448
20	En una forma de realización, se puede emplear un método de descontaminación de las superficies de los electrodos de carbono en el que se remojan las superficies de los electrodos en una solución acuosa de Triton X-100 al 0,5 % durante varias horas, posteriormente se enjuagan con agua desionizada, luego se remojan en agua desionizada durante aproximadamente una hora, y por último se secan. La solución de Triton elimina preferentemente los contaminantes de la superficie y el agua desionizada elimina el tensioactivo adsorbido. Este método de descontaminación es un procedimiento de limpieza eficaz que realza las diferencias entre el ángulo de contacto en retirada en el carbono y las tintas dieléctricas.	
25		
30	La fig. 6 muestra los resultados del procedimiento de descontaminación. Concretamente, la fig. 6 muestra imágenes de EQL de un marcador EQL sobre electrodos de tinta de carbono; las áreas expuestas del electrodo están definidas por una película dieléctrica. La fig. 6a es la imagen de EQL sin descontaminación, y la fig. 6b es la imagen de EQL tras su descontaminación con Triton X-100 de conformidad con lo dispuesto en la presente forma de realización. Estas imágenes de EQL muestran que el proceso del tratamiento reduce enormemente la variabilidad en la intensidad de la EQL sobre la superficie del electrodo, las irregularidades de EQL en el electrodo no tratado probablemente se deben a las manchas de la contaminación en la superficie.	
35		
40	Los electrodos se pueden derivatizar con grupos químicos funcionales que puedan utilizarse para unir otros materiales a los mismos. Los materiales pueden acoplarse covalentemente a estos grupos funcionales, o pueden ser adsorvidos no covalentemente a electrodos derivatizados o electrodos no derivatizados. Es posible preparar los electrodos con grupos químicos funcionales unidos covalentemente a su superficie. Estos grupos químicos funcionales incluyen pero no están limitados a COOH, OH, NH ₂ , carboxilos activados (por ejemplo, ésteres de N-hidroxisuccinimida (NHS)), poli-(glicoles de etileno), tioles, grupos alquilo ((CH ₂) _n), y/o combinaciones de los mismos). Es posible utilizar ciertos grupos químicos funcionales (por ejemplo, COOH, OH, NH ₂ , SH, carboxilos activados) para acoplar los reactivos a los electrodos. Para más información sobre diversas técnicas de inmovilización y de bioconjugación, véase G. Hermanson, A. Mallia y P. Smith, <i>Immobilized Affinity Ligand Techniques</i> (Academic Press, San Diego, 1992) y G. Hermanson, <i>Bioconjugate Techniques</i> (Academic Press, San Diego, 1996).	
45		
50	En formas de realización preferidas, se utilizan los grupos de ésteres de NHS para unir otras moléculas o materiales que llevan un grupo químico funcional nucleofílico (por ejemplo, una amina). En una forma de realización preferida, el grupo químico funcional nucleofílico está presente sobre y/o en una biomolécula, ya sea de forma natural o mediante derivatización química. Los ejemplos de biomoléculas adecuadas incluyen, pero no están limitados a aminoácidos, proteínas y algunos de sus fragmentos funcionales, anticuerpos, fragmentos de unión de anticuerpos, enzimas, ácidos nucleicos y combinaciones de los mismos. Esta es una de muchas de las posibles técnicas y puede aplicarse de manera general a los ejemplos aquí presentados y a muchos otros materiales análogos y/o biomoléculas. En una forma de realización preferida, los reactivos que pueden utilizarse para la EQL pueden estar fijados al electrodo a través de grupos de ésteres de NHS.	
55		
60	Puede ser conveniente controlar el grado de la fijación inespecífica de materiales a los electrodos. Simplemente a modo de ejemplos no limitativos, puede ser conveniente reducir o evitar la adsorción no específica de proteínas, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, células, partículas subcelulares, virus, suero y/o uno o varios de sus componentes, marcadores EQL (por ejemplo, derivados de Ru ^{II} (bpy) ₃ y Ru ^{III} (bpy) ₃), oxalatos, trialquilaminas, antígenos, analitos, y/o combinaciones de los mismos). En otro ejemplo, puede ser conveniente reforzar la unión de las biomoléculas.	
65		

Una o varias fracciones químicas que reducen o impiden las uniones no específicas (también conocidas como grupos de bloqueo) pueden estar presentes, sobre o en la proximidad de un electrodo. Es posible unir esas fracciones, por ejemplo, fracciones de PEG y/o residuos cargados (por ejemplo, fosfatos, iones de amonio), al electrodo o recubrirlo con ellas. Los ejemplos de reactivos de bloqueo útiles incluyen proteínas (por ejemplo, las

5 albúminas e immunoglobinas séricas), ácidos nucleicos, óxidos de polietileno, óxidos de polipropileno, copolímeros de bloque de óxido de polietileno y polipropileno, iminas de polietileno y detergentes o tensioactivos (por ejemplo, clases de detergentes no ionicos/tensioactivos conocidos por los nombres comerciales de Brij, Triton, Tween, Thesit, Lubrol, Genapol, Pluronic (por ejemplo, F 108), Tetronic, Tergitol y Span).

10 Es posible tratar los materiales utilizados en los electrodos con tensioactivos para reducir la fijación inespecífica. Por ejemplo, se pueden tratar los electrodos con tensioactivos y/o detergentes bien conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, las series de detergentes Tween, Triton, Pluronics (por ejemplo, F108), Span, y Brij). Soluciones de PEG y/o moléculas que se comportan de manera similar a PEG (por ejemplo, oligo o polisacáridos, otros oligómeros hidrófilos o polímeros) ("Polyethylene glycol chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications", 15 Harris, J.M. Editor, 1992, Plenum Press) pueden utilizarse en lugar de o junto con los tensioactivos y/o detergentes. Las adsorciones no específicas y no convenientes de ciertas entidades como las enumeradas anteriormente pueden ser bloqueadas por la adsorción competitiva y no específica de un agente de bloqueo, por ejemplo, por medio de una proteína como la seroalbúmina bovina (SAB), la caseína o la inmunoglobulina G (IgG). Es posible adsorber o unir un reactivo de ensayo covalentemente a un electrodo y posteriormente tratar el electrodo con un agente de 20 bloqueo para bloquear el resto de zonas no ocupadas en la superficie.

En formas de realización preferidas, puede ser deseable inmovilizar (ya sea de forma covalente o no covalente) las biomoléculas u otros reactivos de ensayo sobre materiales que contienen carbono, por ejemplo, tintas de carbono, negro de carbón, fibrillas, y/o carbono disperso en otro material. Se pueden fijar los anticuerpos, los fragmentos de

25 anticuerpos, proteínas, enzimas, substratos de enzimas, inhibidores, cofactores, antígenos, haptenos, lipoproteínas, lipopoisacáridos, células, componentes subcelulares, receptores celulares, virus, ácidos nucleicos, antígenos, lípidos, glicoproteínas, carbohidratos, aminoácidos, péptidos, hormonas, ligandos de unión a proteínas, agentes farmacológicos y/o combinaciones de los mismos. También puede ser conveniente acoplar entidades no biológicas tales como, pero no limitado a los polímeros, elastómeros, geles, revestimientos, marcadores EQL, sustancias con 30 actividad redox (por ejemplo, tripropilamina, oxalatos), materiales inorgánicos, agentes quelantes, enlazadores, etc. Una gama de sustancias puede ser co-adsorbidas para formar una capa de mezcla en la superficie de un electrodo. Más preferiblemente, los materiales biológicos (por ejemplo, las proteínas) son inmovilizadas por adsorción pasiva en electrodos que contienen carbono. Sorprendentemente, las membranas biológicas (por ejemplo, células, membranas celulares, fragmentos de membrana, las membranas de las vesículas, liposomas, orgánulos, virus, 35 bacterias, etc.) pueden ser adsorbidas directamente sobre el carbono sin destruir la actividad de los componentes de membrana o su accesibilidad a los reactivos de unión (véase, por ejemplo, la solicitud de patente cos pendiente US 10/208,526 (titulada "Assay Electrodes Having Immobilized Lipid/Protein Layers, Methods Of Making The Same And Methods Of Using The Same For Luminescence Test Measurements"), presentada el 29 de julio de 2002.

40 Los electrodos que se utilizan en los módulos de ensayo son, preferiblemente, no porosos, sin embargo, en algunas aplicaciones es conveniente utilizar electrodos porosos (por ejemplo, esteras de fibras o fibrillas de carbono, metales sinterizados, y películas de metales depositadas en membranas de filtración, papeles u otros sustratos porosos. Estas aplicaciones incluyen aquellas que emplean soluciones de filtración a través del electrodo para: i) incrementar el transporte de masa a la superficie del electrodo (por ejemplo, para aumentar la cinética de la unión de moléculas 45 en solución a moléculas en la superficie del electrodo); ii) capturar las partículas sobre la superficie del electrodo; y/o iii) retirar el líquido del pocillo.

Los módulos de ensayo preferidos pueden utilizar tintas dieléctricas, películas u otros materiales de aislamiento eléctrico (en adelante se denominan «dieléctricos». Los dieléctricos en la presente descripción, no de acuerdo con la

50 invención, se pueden utilizar para prevenir la conectividad eléctrica entre los electrodos, para definir las regiones estructuradas, para adherir materiales (es decir, como adhesivos), como soporte de materiales, para definir los dominios de ensayo, como máscaras, como indicios y/o para incluir reactivos de ensayo y otros líquidos. Los dieléctricos son no conductivos y ventajosamente no porosos (es decir, no permiten la transmisión de materiales) y son resistentes a la disolución o degradación en presencia de los medios que se encuentran en una medición de 55 luminiscencia inducida por electrodo. Los dieléctricos en la presente descripción, no de acuerdo con la invención, pueden ser líquidos, geles, o materiales sólidos dispersos en una matriz. Pueden ser depositados en forma no endurecida y ser endurecidos para solidificarse. Pueden ser tintas, películas sólidas, cintas o láminas. Los materiales utilizados para los dieléctricos incluyen polímeros, fotoresinas, plásticos, adhesivos, geles, vidrio, tintas no conductivas, pastas no conductivas, cerámicas, papeles, siliconas, y elastómeros termoplásticos. Preferiblemente, 60 los materiales dieléctricos de la descripción, no de acuerdo con la invención, están sustancialmente exentos de siliconas. Los ejemplos de tintas no conductivas incluyen dieléctricos curables con luz UV como los materiales producidos por los coloides Acheson Colloids Co. (p. ej., Acheson 451SS, 452SS, PF-455, PD039A, PF-021, ML25251, ML25240, ML25265, y Electrodag 38DJB16 clear), Nazdar (p. ej., Nazdar GS2081 3400SPL) y E. I. du

- Los dieléctricos, en conformidad con ciertas formas de realización preferidas, pueden emplearse en una variedad de maneras, por ejemplo, mediante impresión, rociado en aerosol, laminado, o pueden estar pegados con adhesivos, pegamentos, disolventes o mediante el uso de fijaciones mecánicas. Es posible formar las estructuras y/o agujeros en la capa dieléctrica mediante procesos de moldeo (es decir, durante la fabricación de la capa), mediante grabado selectivo y/o a través de un proceso de corte como el troquelado o el taladrado láser. Los dieléctricos pueden ser depositados y/o grabados en los patrones mediante el uso de técnicas fotolitográficas establecidas (por ejemplo, técnicas utilizadas en la industria electrónica de semiconductores) y/o por deposición mediante procesos de deposición química de vapor (p. ej. deposición a través de una máscara). En una forma de realización preferida, se deposita una tinta dieléctrica sobre un sustrato mediante impresión (por ejemplo, impresión de chorro de tinta, impresión láser o, preferiblemente, serigrafía) y, opcionalmente, curado por UV. Preferiblemente, el dieléctrico serigrafiado permite el curado por UV para mejorar la definición de los bordes en comparación con los dieléctricos a base de solvente. En otra forma de realización preferida, una película polimérica no conductora está fijada a un soporte con un adhesivo.
- 5 Cuando se utiliza una tinta dieléctrica impresa sobre o cerca de un electrodo para confinar líquidos a regiones de la superficie del electrodo, la película dieléctrica preferiblemente tiene un grosor de 0,5-100 micrómetros, o más preferiblemente 2-30 micrómetros, o siendo lo más preferible 8-12 micrómetros y, preferiblemente, también tiene un borde nítidamente definido con paredes empinadas.
- 10 La miniaturización de los diversos componentes y procesos necesarios para respaldar los ensayos basados en EQL puede beneficiarse también de enfoques novedosos para inducir la EQL. Cuando se induce la EQL, el electrodo de trabajo y un contraelectrodo están, preferiblemente, espaciados relativamente cerca uno del otro para minimizar el efecto de la caída de tensión en solución sobre la intensidad y la distribución espacial de las señales EQL. Cuando deben realizarse múltiples mediciones EQL en el mismo volumen de solución, utiliza cada medición, preferiblemente, un electrodo de trabajo poco espaciado (donde se induce la electroquimioluminiscencia) y un contraelectrodo (para completar el circuito electroquímico). Una posible configuración para cada medición sería tener su propio par de electrodos; sin embargo, esta configuración requeriría el mayor volumen, espacio y número de contactos eléctricos en el dispositivo. Una configuración alternativa para cada medición sería compartir un contraelectrodo común que se reutiliza. Las figs. 3f y 3g ilustran posibles enfoques alternativos para el uso de contraelectrodos comunes. Como se observa, las cámaras de detección (por ejemplo, la cámara de detección 34,1) aún requeriría para dichas configuraciones un espacio grande para acomodar tanto los electrodos de trabajo (p. ej., el electrodo de trabajo 315) como el único contraelectrodo común 311. Además, el tamaño relativo y el espaciamiento de cada pareja de electrodo de trabajo-contraelectrodo afectará el rendimiento relativo de cada pareja. Por lo tanto, como se muestra en las figs. 3f y 3g, las configuraciones individuales que emplean un contraelectrodo común garantizarían preferentemente que el tamaño relativo y la separación de cada pareja de electrodo de trabajo-contraelectrodo sea aproximadamente igual. Preferiblemente, los electrodos de trabajo están colocados en una matriz unidimensional, estando la matriz colocada preferiblemente a lo largo de la ruta de flujo de una celda de flujo. El contraelectrodo común también está preferiblemente alineado con la trayectoria del flujo a un lado de la matriz, a fin de mantener aproximadamente el mismo espacio hacia cada uno de los electrodos de trabajo. Preferiblemente, no hay ningún electrodo de trabajo situado en la ruta más corta entre el contraelectrodo y otro electrodo de trabajo; la aplicación de un potencial amplio entre el contraelectrodo y un primer electrodo de trabajo puede generar, bajo algunas condiciones, potenciales suficientemente altos en la solución intermedia para desencadenar una emisión no deseada de EQL en un segundo electrodo de trabajo, ubicado en la ruta más corta entre el primer electrodo de trabajo y el contraelectrodo. Opcionalmente, el área de la superficie del electrodo en contacto con la cámara de detección está definida por una abertura en una película dieléctrica depositada sobre la capa de electrodos (se muestran como círculos en la capa de electrodos).
- 15 En una forma de realización preferida, puede emplearse un sistema de estímulo de electrodos por pares para miniaturizar el cartucho en la mayor medida posible, y por lo tanto reducir considerablemente el volumen y el espacio necesarios. Este sistema preferido de estímulo de electrodos por pares, o sistema de emparejamiento de electrodos, emplearía preferiblemente un contraelectrodo galvánico o especializado para la primera medición y posteriormente permitiría la reutilización de un electrodo de trabajo previamente disparado (donde el término «disparado» describe el estado de la superficie tras la aplicación de un potencial de un electrodo de trabajo, por ejemplo, un potencial suficiente para generar electroquimioluminiscencia en un electrodo de trabajo) que actuaría como el próximo contraelectrodo para la siguiente medición. Sorprendentemente, se observó, como se expone a continuación, que ni un recubrimiento de proteína en el electrodo que se utiliza como contraelectrodo ni el hecho de que el electrodo ya había sido disparado una vez como electrodo de trabajo afectó al rendimiento de ese electrodo para su uso como contraelectrodo, permitiendo así el uso de electrodos en un doble papel como electrodos de trabajo y como contraelectrodos.
- 20 Las figs. 3a - 3e ilustran las posibles configuraciones alternativas para matrices de electrodos empleando el sistema de estímulo por pares. La fig. 3a muestra un único banco de electrodos que puede utilizarse en una o varias cámaras de detección (aquí se indica una sola cámara de detección 340 con la línea discontinua). Los electrodos están preferiblemente dispuestos en una matriz unidimensional. Opcionalmente, el área de la superficie del electrodo en contacto con la cámara de detección está definida por una abertura en una película dieléctrica depositada sobre la capa de electrodos (se muestra mediante círculos en la capa de electrodos). En una forma de realización, el

electrodo 310 puede ser configurado como el contraelectrodo especializado, los electrodos 305-309 pueden configurarse como electrodos de doble función, y el electrodo 315 puede ser configurado como el electrodo de trabajo especializado. El banco de electrodos tiene sensores de impedancia 325 en los cables que van hacia los electrodos, y pueden colocarse para estar en contacto con el líquido en las líneas de entrada o salida de la cámara

5 de detección. Preferiblemente, los sensores de impedancia están definidos por las aberturas en una capa dieléctrica depositada sobre la capa de electrodos. La matriz de electrodos de la fig. 3a utiliza una configuración en la cual los contactos eléctricos y cables están situados a un lado de los electrodos permitiendo un acoplamiento simplificado con la unidad de control. La fig. 3b muestra una configuración alternativa donde los contactos eléctricos y cables están colocados alternativamente a ambos lados de los electrodos. Esta configuración alterna puede permitir que se 10 coloquen los sensores de impedancia en cada uno de los cables eléctricos para permitir la exploración de los líquidos durante la entrada y salida de la cámara de detección (por ejemplo, organizando la tubería de entrada y salida de líquido, respectivamente, para que contacten con los sensores de impedancia en lados alternos de los electrodos).

15 Las figs. 3c - 3e ilustran configuraciones que emplean varias cámaras de detección. En particular, las figs. 3c y 3d muestran dos cámaras de detección que emplean dos bancos de electrodos. La fig. 3d muestra una configuración en la cual los electrodos para un conjunto de contactos/cables están dentro de la cámara de detección situada en el lado contrario. Esta configuración puede proporcionar ventajas añadidas como una matriz de electrodos más densa y la posibilidad de instalar sensores de impedancia en cada cable. Los sensores de impedancia pueden colocarse en 20 cada uno de los cables, ya que es posible procesar cada una de las cámaras de detección alternativamente; es decir, el líquido se dirige primero a una cámara de detección y se realizan todos los ensayos y, a continuación, el líquido se dirige a la otra cámara de detección para el procesamiento de los ensayos restantes.

25 La fig. 3e representa una forma de realización que utiliza cuatro cámaras de detección. Cabe señalar que, mientras que la fig. 3e muestra una matriz de electrodos que emplea un contraelectrodo único y común en cada una de las cámaras de detección, también puede emplearse una configuración de este tipo utilizando el sistema de estímulo por pares anteriormente descrito.

30 Preferiblemente, las matrices de electrodos que se muestran en las figuras 3a-3g están apoyadas sobre un soporte, como una película o una lámina de plástico. Las cámaras de detección están, preferiblemente, formadas por el apareamiento del soporte con un segundo componente del cartucho que posee canales o aberturas definidas al respecto (opcionalmente, estas características están al menos parcialmente definidas por una junta entre el soporte de electrodo y el segundo componente del cartucho); véase la explicación de la fig. 1c.

35 Dado que se consideraba que el uso del sistema de emparejamiento de electrodos podría dar lugar a que el ensayo con un electrodo de trabajo utilizado anteriormente afectara a su función de contraelectrodo para el siguiente electrodo de trabajo, se diseñó un experimento donde se usaron tres diferentes recubrimientos con proteínas para determinar su efecto. Se midieron los efectos de tres recubrimientos de proteína: avidina, anticuerpos de captura para CK-MB, e IgG de bovinos. Se midió la EQL de una solución 10 nM de rutenio-tris-bipiridina en una solución 40 amortiguadora que contenía tripropilamina con varios electrodos no cubiertos, y con varios contraelectrodos (cubiertos, no cubiertos, usados, y vírgenes); estos resultados se muestran en la Tabla 2. En esta tabla, EQL_{CE} usado indica la EQL procedente de un electrodo de trabajo emparejado con un contraelectrodo que ha sido previamente disparado como electrodo de trabajo; y EQL_{CE} virgen se refiere a la EQL del electrodo de trabajo emparejado con un contraelectrodo que no ha sido previamente disparado como electrodo de trabajo. Las señales de EQL que se 45 observaron estaban todas dentro del error experimental, mostrando el resultado inesperado de que ni la presencia de proteínas en la superficie ni el uso previo como electrodo de trabajo ha tenido efecto alguno sobre el rendimiento de esa superficie del contraelectrodo.

50 Tabla 2. Efectos del recubrimiento con proteína y la aplicación de potenciales oxidativos a electrodos previamente utilizados como contraelectrodos en la generación de EQL con marcador libre

Proteína en el CE	EQL _{CE} usado	EQL _{CE} virgen
Anti-CK-MB	199	207
Blanco	199	197
Avidina	181	205
IgG	203	214

55 Con referencia a la fig. 4, y únicamente a modo de ejemplo, se describe el funcionamiento de una matriz de electrodos simplificada que emplea el sistema de estímulo por pares dentro de una cámara de detección individual. A efectos de este ejemplo, no se tratará el tema de la introducción de la muestra, los reactivos de ensayo, las soluciones de lavado y/o las soluciones amortiguadoras a través de la línea de entrada de líquidos 450; se entiende que, para este ejemplo, cada uno de los componentes necesarios para realizar el ensayo están presentes en la cámara de detección. Al menos uno de los electrodos actuará como un contraelectrodo especializado, p. ej., 401, y 60 por lo tanto no habrá ningún reactivo de ensayo inmovilizado en el mismo. En los electrodos 402-407 habrá reactivos de ensayo inmovilizados; los electrodos 402-406 se utilizan como electrodos de doble función y el electrodo 407 se

utiliza como un electrodo de trabajo especializado. Como se ilustra en la figura, los electrodos se organizan preferiblemente en matrices unidimensionales (más preferiblemente, en matrices lineales) a lo largo de la ruta de fluido en la cámara de detección. El contraelectrodo especializado 401 será utilizado, en primer lugar, junto con el electrodo de doble función adyacente 402, donde el electrodo de doble función actuará como electrodo de trabajo para realizar el ensayo requerido en el electrodo de doble función 402. Posteriormente, el electrodo de doble función 402 actuará como contraelectrodo y será disparado por pares con el electrodo de doble función 403, donde el electrodo de doble función 403 actuará como electrodo de trabajo para realizar el ensayo requerido en el electrodo de doble función 403. Con el resto se continua con el sistema de disparos por pares, hasta la pareja de electrodos 406 y 407. Este último par empleará el electrodo de doble función 406 como contraelectrodo y el electrodo de trabajo especializado 407 como electrodo de trabajo para realizar el ensayo requerido en el electrodo de trabajo 407. Preferiblemente, los pares de electrodos utilizados en un disparo específico son adyacentes entre sí (es decir, no hay otros electrodos situados entre ellos) para evitar las emisiones no deseadas de EQL de un electrodo situado en los espacios intermedios

15 El uso de electrodos estructurados en los cartuchos puede imponer ciertos diseños exclusivos y/o limitaciones en el rendimiento. En particular, el uso de cables de electrodos estructurados puede conducir a problemas asociados con la caída de tensión a lo largo de los cables, especialmente en aplicaciones como electroquimioluminiscencia que a menudo requieren corrientes relativamente altas. Los problemas a menudo son mayores cuando se utilizan electrodos que constan de capas finas de materiales solo moderadamente conductivos, como las tintas de carbono.

20 El problema puede mitigarse en parte, mediante el uso de electrodos estructurados de múltiples capas (donde se incrementa la conductividad de un material moderadamente conductor expuesto como una tinta de carbono por la impresión sobre un material más conductor como una tinta de plata) aunque este enfoque introduce etapas de fabricación adicionales. Alternativamente, el problema puede mitigarse parcialmente en los sistemas con múltiples electrodos de ensayo manteniendo los cables cortos (preferiblemente, de modo que la resistencia entre el electrodo y el contacto eléctrico sea inferior a 500 ohmios, más preferiblemente inferior a 300 ohmios, siendo lo más preferible inferior a 100 ohmios) para minimizar la caída de tensión y manteniendo los cables a la misma longitud para que la caída de tensión sea constante de un electrodo al otro.

25

30 En un módulo de ensayo que consta de múltiples electrodos de trabajo, la variabilidad de un electrodo al otro en la caída de tensión a lo largo de los cables de los electrodos es preferiblemente menor que el potencial aplicado durante el transcurso de una medición de ensayo, de modo que esta variabilidad tiene un efecto mínimo sobre la variabilidad de las mediciones. En formas de realización especialmente preferidas, la variabilidad en la caída de tensión en los cables es inferior al 20 % de los potenciales aplicados durante el transcurso de una medición de ensayo, preferiblemente inferior al 10 % o más preferiblemente inferior al 2 %. Alternativamente, la uniformidad de los cables puede describirse en términos de la variabilidad de la resistencia en todos los cables que preferiblemente es inferior a 50 ohmios, más preferiblemente inferior a 10 ohmios, siendo lo más preferible inferior a 1 ohmio.

35 Cuando la disposición de los electrodos y/o contactos, resulta difícil para mantener uniforme la longitud de los cables, es posible lograr un ajuste entre las resistencias de los cables mediante un ajuste geométrico de la relación de longitud a anchura de cada cable de electrodo (suponiendo un espesor de impresión constante). Esta relación de longitud a anchura se denomina en adelante «número de cuadrados». Normalmente, para una configuración preferida, basada en cartuchos que utilizan tintas de carbono para serigrafía, los cables de los electrodos son del orden de 4 a 5 cuadrados. Normalmente las tintas comercialmente disponibles tienen resistencias de tinta que se especifican en la resistencia por cuadrado por grosor y pueden variar ampliamente dependiendo de la tinta seleccionada. En una forma de realización especialmente preferida, se utiliza una tinta de carbono que posee una resistencia de tinta que mide aproximadamente 15 ohmios/cuadrado/ml. La resistencia total, medida de extremo a extremo, a lo largo de un cable para una forma de realización preferida suele ser del orden de 450 ohmios para una configuración que utiliza un cable de 5 cuadrados.

40 La fig. 2 muestra una forma de realización preferida de una matriz de electrodos direccional para generar EQL que pueda incorporarse en un factor de forma basado en cartucho con el requisito de aprovisionamiento para muestra/mezcla de reactivos/liberación. Como se refleja, los contactos 205 y cables 210 se utilizan para permitir que los electrodos 215 en la matriz de electrodos direccional sean controlados por una unidad de control (no se muestra) adaptada para entrar en contacto con el cartucho o acoplarse al mismo. Dado que la resistencia en todos los cables 210 representa una importante fracción del total de la resistencia de la celda durante un ensayo de medición, es preferible que se asemeje a la resistencia en todos los cables lo más posible. Como se muestra en la figura, la longitud de los cables varía según la colocación de los electrodos y contactos, sin embargo, el ancho es variado, de modo que la relación de longitud a anchura de los cables se mantiene constante para proporcionar una resistencia de cable uniforme (los anchos en la figura no son a escala y se han exagerado para enfatizar).

45

50 La utilización de la matriz de electrodos para múltiples propósitos contribuye a un dispositivo miniaturizado, basado en cartucho, dado que se elimina la necesidad de componentes adicionales. La matriz de electrodos también puede utilizarse convenientemente para detectar la presencia de líquido, para la detección de aire atrapado y/o para la identificación del tipo de muestra. Preferiblemente, se puede utilizar una medición de impedancia para monitorizar el estado de la celda durante la rutina del cartucho. La medición puede evaluar si hay aire atrapado por encima o por debajo de un electrodo durante la incubación y después de la etapa de lavado. Además, la medición de la

55

60

65

impedancia también puede permitir el uso de la matriz de electrodos para distinguir los diferentes tipos de muestras introducidas en el cartucho, por ejemplo, distinguir entre muestras de orina, saliva, suero, plasma o sangre entera, y hacer los ajustes necesarios que puedan ser necesarios.

- 5 Las ventajas asociadas con el uso de la matriz de electrodos para supervisar las operaciones del cartucho mediante la realización de mediciones de impedancia pueden ser muchas. En particular, el uso de la matriz de electrodos de esta manera permite la realización de una medición no destructiva, dado que puede utilizarse la aplicación de CC de baja tensión o, preferiblemente, las formas de onda de CA sin ningún efecto sobre la posterior medición EQL. Además, la medición de la impedancia realizada por la matriz del electrodo es relativamente rápida en comparación con otras operaciones del cartucho. Aún más, la medición de la impedancia realizada por la matriz de electrodos es muy precisa y puede utilizarse, preferiblemente, junto con otros sensores; por ejemplo, de presión, ópticos, etc.

10 A bajos voltajes, los electrodos situados en la zona donde se realiza la detección, es decir, la cámara de lectura, se comportan como un circuito RC en serie. Esto ha resultado ser un modelo adecuado para el desarrollo de un mecanismo a prueba de fallos para determinar la presencia de líquidos, la presencia de una burbuja no deseada o para discriminar entre el tipo de muestra en la cámara de lectura. En la práctica, se ha observado que el aire atrapado puede residir en la superficie de los electrodos o en el grueso de la solución. Es importante la ubicación del aire con respecto a los electrodos. Según una forma de realización, se puede utilizar una medición de resistencia para proporcionar un indicador que es sensible al aire atrapado en la solución inicial y en la superficie de contacto entre el electrodo y la solución. Según otra forma de realización, puede utilizarse una medición de capacitancia para proporcionar un indicador que es principalmente sensible al aire atrapado en la interfase. En otra forma de realización alternativa, puede utilizarse la corriente electroquímica durante una medición de EQL (por ejemplo, la corriente de la oxidación de TPA durante EQL) para detectar el aire atrapado durante la medición de EQL, sin embargo, esta medición no proporcionaría información relacionada con el aire atrapado durante la entrada de muestra y las fases de incubación, y no permitiría que se adoptaran medidas correctivas antes de la medición de EQL.

15 Con respecto al uso de una medición de capacitancia, la capacitancia adecuada es la capacitancia de la doble capa. Dado que la capacitancia de placas paralelas es insignificante en frecuencias por debajo de 1 MHz, es preferible ignorarla. Cada uno de los electrodos tiene una capacitancia de doble capa. Cabe señalar que la capacitancia de la doble capa no es un condensador auténtico, ya que exhibe una pequeña dependencia de la frecuencia. Ventajosamente, la capacitancia se ve principalmente afectada por los cambios en la interfase (por ejemplo, los cambios en el área efectiva de un electrodo debido a la captura de una burbuja de aire sobre la superficie del electrodo), y no por el grueso; por lo tanto, se utiliza la capacitancia preferiblemente para detectar burbujas de aire en las interfases electrodo-solución. Preferiblemente, la medición de la capacitancia utiliza un voltaje de CA de entrada con una frecuencia entre 10-40 000 Hz, más preferiblemente entre 20-2000 Hz, más preferiblemente entre 50-400 Hz, siendo lo más preferible alrededor de 200 Hz. Otros factores además del aire atrapado, por ejemplo, errores en la impresión de los electrodos, pueden cambiar el área efectiva de un electrodo y la medición de la capacitancia. La medición de la capacitancia puede utilizarse para comprobar estos factores, así como la formación de burbujas y puede utilizarse también para activar indicadores de error si los valores actuales quedan fuera de un rango aceptable o, alternativamente, para permitir la normalización de la señal de EQL comunicada para compensar la superficie real del electrodo.

20 Con respecto al uso de una medida de resistencia, las resistencias adecuadas son las resistencias de la solución y de los cables. Se ha observado que la resistencia de la solución tendrá una pequeña dependencia de la frecuencia. La resistencia se ve afectada por los cambios en la solución inicial (por ejemplo, por burbujas que interfieren con el flujo de corriente a través de la solución inicial) y los cambios en la interfase electrodo-solución (por ejemplo, el aire atrapado en la interfase tiene el efecto de reducir la zona efectiva del electrodo y, por lo tanto, aumenta la resistencia). Cabe también esperar que la resistencia de la solución sea muy sensible a la naturaleza de la solución en contacto con los electrodos y también puede utilizarse para identificar la muestra.

25 Los componentes resistivos (en fase) y los componentes capacitivos (fuera de fase) de la impedancia pueden medirse simultáneamente mediante circuitos convencionales de análisis de impedancia, preferiblemente utilizando una forma de onda de tensión con una frecuencia en la que ambos componentes tienen un efecto significativo sobre la impedancia y/o una forma de onda de tensión con una gama de frecuencias que incluye al menos una frecuencia donde la resistencia es un componente significativo de la impedancia, y al menos una frecuencia donde la capacitancia es un componente significativo de la impedancia. Alternativamente, los componentes resistivos y capacitivos pueden medirse por separado, preferiblemente en frecuencias que maximicen el efecto del componente que se vaya a medir. Por ejemplo, en frecuencias altas, el efecto de la capacitancia de la superficie se reduce al mínimo, y la impedancia es principalmente debida a la resistencia de la solución. La resistencia de la solución se mide mediante la aplicación de una forma de onda de tensión con una frecuencia superior a 2000 Hz, más preferiblemente entre 2000 y 100 000 Hz, siendo lo más preferible alrededor de 20 000 Hz.

30 La identificación de la matriz de la muestra puede ser muy importante, ya que algunos ensayos bioquímicos, pueden tener etapas variadas o diferentes requisitos de procesamiento posterior (por ejemplo, las muestras de sangre podrían tratarse de forma diferente que las muestras de plasma). En las tablas 3 y 4 se muestran los valores de

resistencia y capacitancia adquiridos para cinco matrices diferentes mediante la aplicación de CA de bajo voltaje a electrodos de excitación dentro de un cartucho experimental. La matriz de electrodos consta de electrodos de tinta de carbono serigrafiada, la superficie expuesta de los cuales fue definida por una capa dieléctrica estructurada y serigrafiada sobre la tinta de carbono. Las mediciones de impedancia se realizaron a 25 °C con una tensión de excitación igual a 0,010 V en las frecuencias indicadas en las tablas. Para mediciones de capacitancia, puesto que es conveniente utilizar una frecuencia donde toda (o casi toda) la caída de la tensión se produce entre el elemento capacitivo, se utilizó una frecuencia de 200 Hz, dado que se descubrió que esto derivaba en más del 95 % de la caída de tensión que se produce a través de la capacitancia de doble capa; es decir, las pérdidas de solución fueron casi insignificantes. La resistencia y la capacitancia se calcularon mediante un modelo de RC en serie.

Como puede verse en las tablas 3 y 4, la capacitancia varía poco entre las diferentes matrices de muestras, sin embargo, las resistencias mostraron una variabilidad mucho mayor entre las matrices.

Tabla 3. Discriminación de muestras mediante mediciones de capacitancia (ángulos de fase de 76 a 82 grados)

Matriz	Capacitancia, μF a 200 Hz
solución amortiguadora de ensayo	0,023.
Solución fisiológica	0,021
Suero	0,019
Plasma	0,018
Sangre	0,020

Tabla 4. Discriminación de muestras mediante mediciones de resistencia (incluye 700 ohmios de resistencia de cable; ángulos de fase de 12 a 16 grados)

Matriz	Resistencia, ohmios a 20 000 Hz
Solución amortiguadora de ensayo	2516
Solución fisiológica	3722
Suero	3996
Plasma	4158
Sangre	7039

En ciertas formas de realización preferidas, puede utilizarse la corriente electroquímica medida durante la inducción de la EQL para detectar la presencia de aire atrapado en un electrodo, dado que el aire atrapado puede causar una disminución significativa en la corriente electroquímica (por ejemplo, la corriente de la oxidación de TPA durante EQL). La figura 5 muestra una imagen de EQL emitida de una matriz de electrodos. Uno de los electrodos tiene una pequeña mancha oscura 500 debido a la presencia de una pequeña burbuja de aire sobre la superficie del electrodo. Incluso una pequeña burbuja dio un cambio detectable en la corriente electroquímica que se midió con aquel electrodo durante el experimento de EQL; la corriente en presencia de la burbuja de aire (178 μA) fue significativamente diferente (al 5 %) que el promedio de la corriente en los otros electrodos (187 μA). Otros factores además del aire atrapado, por ejemplo, errores en la impresión de los electrodos, pueden cambiar el área efectiva de un electrodo y la medición de la corriente. Es posible utilizar la medición de corriente durante la EQL para comprobar estos factores, así como la formación de burbujas y pueden utilizarse también para activar indicadores de error si los valores actuales quedan fuera de un rango aceptable o, alternativamente, para permitir la normalización de la señal de EQL comunicada para compensar el área del electrodo.

Los métodos de detección de burbujas anteriormente descritos también pueden emplearse para detectar la presencia de líquidos, la presencia de burbujas en líquidos y/o identificar clases de muestras en compartimentos en un cartucho de ensayo fuera de las celdas de flujo de detección. Por ejemplo, ciertas formas de realización preferidas de cartuchos de ensayo incluyen líneas de entrada y/o salida de líquido para la introducción y extracción de líquidos de la celda de flujo del cartucho, donde estas líneas de entrada y/o salida constan de electrodos de detección de líquido para detectar la presencia de líquido, la presencia de burbujas de aire en los líquidos y/o para la identificación de las muestras. Estos electrodos de detección de líquido pueden tener cables y contactos de electrodos independientes. A fin de reducir el número de contactos eléctricos con el cartucho, estos electrodos de detección de líquido incluyen preferiblemente superficies de los cables expuestas a los electrodos de ensayo (p. ej. electrodos de ensayo en las celdas de flujo del cartucho de ensayo). En esta modalidad, es más preferible que los cables expuestos en un determinado volumen de líquido (por ejemplo, una línea de entrada o salida) no contengan

cables de dos electrodos que se disparen juntos en una medición de ensayo (por ejemplo, que se utilicen como una pareja de electrodo de trabajo y contraelectrodo en una medición de EQL). De esta manera se garantiza que las mediciones de ensayo no se vean afectadas por rutas de corrientes de baja resistencia entre los cables expuestos.

- 5 Con referencia a la forma de realización simplificada que muestra la fig. 4, se aborda ahora el tema del uso de los
 10 sensores de impedancia 425 para la detección de presencia y/o discriminación de líquido en la línea de entrada de líquido 450. Los sensores de impedancia 425 son zonas de superficies conductoras en los cables de los electrodos 401-407 y los contactos de los electrodos 420. Las superficies conductoras de la electricidad se exponen, preferiblemente, a través de las aberturas en una capa dieléctrica estructurada que está estructurada sobre los
 15 cables de los electrodos. A medida que el líquido se dirige hacia y a través de la línea de entrada de líquido 450 (por ejemplo, mediante el uso de bombas, válvulas, flujo capilar, y similares), los sensores de impedancia 425 pueden activarse por un controlador (no se muestra) que aplica potenciales exploratorios entre los pares de sensores para detectar y/o discriminar el líquido (los potenciales exploratorios son preferiblemente inferiores a los que se necesitan para inducir EQL en los electrodos de ensayo). La posición de burbujas de aire o líquido en la línea de entrada
 20 puede determinarse de forma secuencial mediante la medición de la impedancia entre diferentes pares de sensores y comparando los valores. Los sensores se encuentran en cables de electrodos alternos, de manera que cuando se disparen electrodos adyacentes durante, por ejemplo, una medición de EQL, el potencial de ninguno de los electrodos de ensayo esté en cortocircuito debido a la corriente entre los sensores.
- 25 Según otro aspecto de la presente invención, las superficies de los electrodos están recubiertas con reactivos de ensayo, como anticuerpos y otros reactivos de unión específicos mediante la dispensación de soluciones que incluyen los reactivos a una o varias ubicaciones adecuadas en la matriz de electrodos, es decir, las superficies de captura. Preferiblemente, los reactivos de ensayo se acumulan en la superficie (por ejemplo, mediante la formación de enlaces covalentes, adsorción no específica o interacciones específicas de enlace) para formar una capa inmovilizada en el electrodo. En una forma de realización preferida, la entrega de un volumen exacto a una ubicación
 30 especificada da lugar a una cobertura completa de la superficie del electrodo requerida y/o una parte requerida del mismo. La entrega de un volumen exacto a una ubicación especificada puede realizarse fácilmente con equipos de dispensación comercialmente disponibles; por ejemplo, el equipo de BioDot comercialmente disponible.
- 35 El logro de una cobertura completa de una zona definida previamente sobre una superficie (por ejemplo, un electrodo de ensayo) a través de la deposición localizada de un líquido (por ejemplo, un reactivo de ensayo o un líquido que contenga un reactivo de ensayo) puede ser difícil de conseguir si el ángulo de contacto avanzante del líquido en la superficie es alto, y que de ese modo inhiba la propagación del líquido en la superficie (como se ha observado para soluciones acuosas exentas de tensioactivos en electrodos de tinta de carbono no tratados). La propagación puede acelerarse mediante la modificación química de la superficie para hacerla más humectable o añadiendo tensioactivos al líquido, sin embargo, en muchas circunstancias, no es conveniente cambiar las
 40 propiedades físicas de la superficie o del líquido. Como alternativa, hemos constatado que puede lograrse una difusión de líquidos excelente y bien controlada sobre las superficies, tales como electrodos de tinta de carbono, con una alta histéresis de ángulo de contacto (es decir, la existencia de grandes diferencias en el ángulo de contacto avanzante y retrocedente del líquido en la superficie, preferiblemente diferencias superiores a 10 grados, más preferiblemente superiores a 30 grados, más preferiblemente superiores a 50 grados, siendo lo más preferible superiores a 70 grados) mediante propagación del líquido impulsada por impacto. Esos resultados pueden lograrse sin modificación de la superficie o el uso de tensioactivos. El líquido se deposita (preferiblemente, mediante un
 45 microdispensador de líquidos como una micropipeta, microjeringa, un microdispensador controlado por una válvula solenoide, un dispensador con accionamiento piezoelectrónico, una impresora de chorro de tinta, impresora láser, etc.) sobre la superficie a alta velocidad (preferiblemente superior a 200 cm/s, más preferiblemente a más de 500 cm/s, siendo lo más preferible a más de 800 cm/s), como para impulsar la difusión del líquido sobre la superficie, a pesar del alto ángulo de contacto avanzante, a un tamaño dictado por el volumen y la velocidad del líquido dispensado. Un ángulo de contacto retrocedente bajo impide una retracción significativa del líquido una vez que se haya propagado.
 50 Utilizando la técnica de difusión impulsada por el impacto, es posible recubrir con un determinado volumen de líquido zonas de una superficie que son considerablemente más grandes (preferiblemente, al menos por un factor de 1,2, más preferiblemente al menos por un factor de 2, incluso más preferiblemente al menos por un factor de 5) que el estado estable del área de difusión del volumen predeterminado de líquido sobre la superficie (es decir, el área sobre la cual una gota con ese volumen se propaga cuando toca la superficie a una velocidad que se aproxima a cero).
- 55 Preferiblemente, la zona que va a ser recubierta está definida por una frontera física, que actúa como una barrera para delimitar el líquido depositado hacia la zona predefinida (por ejemplo, un saliente circundante o una depresión, una frontera formada por materiales depositados o impresos en la superficie, y/o una barrera formada a través de una interfase con una zona circundante que varía en una propiedad física como la humectabilidad). Preferiblemente, el líquido tiene un mayor ángulo de contacto retrocedente en la zona circundante que en la zona definida previamente (preferiblemente, la diferencia es superior a 10 grados, más preferiblemente superior a 30 grados, más preferiblemente superior a 50 grados). Incluso más preferiblemente, la zona circundante también presenta una baja histéresis del ángulo de contacto del líquido (preferiblemente, inferior a 20 grados, siendo lo más preferible inferior a 10 grados). Utilizando una zona circundante con un ángulo de contacto retrocedente alto y/o una histéresis baja, la tolerancia de la imprecisión de la velocidad de deposición o índice de dispersión es mucho mejor. En un método de

5 depósito preferido, un pequeño volumen de reactivo es distribuido en la zona pre-definida con la suficiente velocidad para difundir en toda la zona pre-definida y escasamente en la zona circundante; el líquido entonces se retrae fuera de la zona circundante (debido a su alto ángulo de contacto retrocedente) pero no se retrae en un tamaño inferior al tamaño del área predefinida (debido a su bajo ángulo de contacto retrocedente). En formas de realización especialmente preferidas, el área predefinida es una zona expuesta de un electrodo (preferiblemente, un electrodo de tinta de carbono) y la zona circundante es proporcionada por una tinta dieléctrica estructurada sobre el electrodo.

10 La fig. 8 ilustra los ángulos de contacto típicos que se observan, de gotas de agua de 250 nl depositadas mediante una electroválvula controlada por el microdispensador (Bio-Dot Microdispensor, Bio-Dot Inc.) en una tinta dieléctrica preferida y una tinta de carbono preferida. La figura muestra un gráfico de los ángulos de contacto en función de la velocidad del líquido que sale de la punta del dispensador. A baja velocidad, el ángulo de contacto es cercano al ángulo de contacto avanzante de agua sobre la superficie. Al aumentar la velocidad, la difusión impulsada por impacto ocasiona que el líquido se propague a través de un área mayor y que el ángulo de contacto observado se reduzca. A altas velocidades, el ángulo de contacto observado es relativamente independiente de la velocidad, a medida que se aproxima al ángulo de contacto retrocedente del líquido en la superficie; el ángulo de contacto retrocedente es el ángulo de contacto más bajo que el líquido puede tener en la superficie (un ángulo de contacto menor podría ocasionar que la gota retroceda hasta que alcance el ángulo de contacto retrocedente).

15 20 Como se describió anteriormente, los reactivos de ensayo, tales como anticuerpos y otros reactivos de unión específicos pueden ser estructurados mediante la deposición (p. ej., a través de la extensión impulsada por impacto) de soluciones que contengan los reactivos en las ubicaciones predefinidas sobre una superficie (por ejemplo, la superficie de un electrodo, preferiblemente la superficie de un electrodo de tinta de carbono) y pueden permitir que los reactivos sean inmovilizados en la superficie (por ejemplo, a través de enlaces covalentes, interacciones no específicas y/o interacciones de enlace específicas). Preferiblemente, la zona que vaya a recubrirse está definida por una frontera física, que actúa como una barrera para limitar el líquido depositado en la zona definida previamente (por ejemplo, un saliente o una depresión circundante, una frontera formada por materiales estructurados, depositados o impresos en la superficie, y/o una frontera formada a través de una interfase con una zona circundante que varía en una propiedad física como la humectabilidad) para formar una zona de contención de líquidos.

25 30 35 En ciertas formas de realización preferidas, se inmovilizan anticuerpos u otros reactivos de unión (preferiblemente reactivos de unión proteínicos sobre electrodos de tinta de carbono por adsorción no específica. Puede ser ventajoso permitir que se seque la solución de reactivo de ensayo en el electrodo durante el procedimiento de inmovilización. Preferiblemente, el procedimiento de inmovilización comprende además el bloqueo de sitios no recubiertos en la superficie con un agente de bloqueo como una solución de proteína (por ejemplo, soluciones de SAB o caseína), el lavado de la superficie con una solución de lavado (preferiblemente una solución tamponada que incluya tensioactivos, agentes de bloqueo y/o estabilizadores de proteínas como azúcares) y/o el secado de la superficie.

40 45 50 55 En un procedimiento de inmovilización preferido, la imprecisión debida a las variaciones en la capacidad de los diferentes reactivos de ensayo para adsorber sobre una superficie tal como un electrodo de tinta de carbono se reducen mediante la inmovilización a través de una interacción de enlace específica que involucra un primer y un segundo componente de enlace. Es menos probable que esa técnica de inmovilización se vea afectada por pequeñas variaciones en las propiedades de la superficie. A modo de ejemplo, los anticuerpos pueden estar estructurados por deposición estructurada de soluciones de anticuerpo (el primer componente de enlace) sobre una superficie recubierta con un reactivo de unión a anticuerpos (el segundo componente de enlace, por ejemplo, un anticuerpo antiespecie, proteína A, proteína G, proteína L, etc.). Alternativamente, los reactivos de ensayo marcados con el primer componente de enlace (preferiblemente, biotina) pueden ser estructurados por la deposición estructurada de los reactivos de ensayo sobre una superficie recubierta con el segundo componente de enlace (preferiblemente, anti-biotina, estreptavidina o, más preferiblemente, avidina). Más preferiblemente, el segundo componente de enlace es depositado en el mismo patrón que los reactivos de ensayo. Por analogía, es posible adaptar el método para utilizar cualquiera de una variedad de parejas de primeros y segundos componentes de enlace conocidos, incluyendo, pero no estando limitados a, hapteno-anticuerpo, ácido nucleico-ácido nucleico complementario, receptor-ligando, metall ligando al metal, azúcar-lectina, ácido borónico-diol, etc.

60 65 En consecuencia, una forma de realización de un método de inmovilización constituye la formación de un dominio de ensayo que incluye un reactivo de ensayo mediante: i) el tratamiento de una región predefinida de una superficie (preferiblemente, una superficie de electrodos de tinta de carbono) con una solución que incluya un segundo componente de enlace, de modo que formen una capa de captura adsorbida (o, alternativamente, una capa covalentemente unida) de dicho segundo componente de enlace (preferiblemente, avidina) dentro de la zona predefinida de dicha superficie; ii) el tratamiento de la capa de captura en la zona predefinida con una solución que contenga el reactivo de ensayo, donde el reactivo de ensayo está unido a o contiene un primer componente de enlace (preferiblemente, un reactivo de ensayo que está marcado con biotina) que se une al segundo componente de enlace. Preferiblemente, se utiliza una técnica microdispensadora para estructurar el segundo componente de enlace y/o el reactivo de ensayo en la zona previamente definida (preferiblemente se estructuran ambos).

Preferiblemente, la zona predefinida es definida por un límite (preferiblemente definido por una capa dieléctrica modelada sobre la superficie) adaptado para confinar los pequeños volúmenes de líquido a la zona predefinida.

Las etapas de tratamiento pueden incluir dejar que las soluciones se sequen en las regiones predeterminadas. Entre 5 la unión del segundo componente de enlace y la unión del reactivo de ensayo, puede ser conveniente lavar la superficie con una o varias soluciones de lavado para eliminar el exceso del segundo componente de enlace que no se haya unido. Las soluciones de lavado incluyen, preferiblemente, tensioactivos y/o agentes de bloqueo. Tras inmovilizar el reactivo de ensayo, puede ser conveniente lavar la superficie con una o varias soluciones de lavado para eliminar el exceso del segundo componente de enlace que no se haya unido. Las soluciones de lavado 10 incluyen, preferiblemente, tensioactivos, agentes de bloqueo y/o estabilizadores de proteínas como azúcares. Los agentes de bloqueo convenientes incluyen agentes de bloqueo convencionales en la materia (SAB, caseína, etc.) pero también incluyen reactivos de bloqueo que contienen el primer componente de enlace (por ejemplo, biotina libre) con el fin de bloquear los sitios de enlace libres en la capa inmovilizada del segundo reactivo de enlace. Las etapas de lavado pueden emplear las técnicas de lavado que emplean tubos concéntricos para agregar y retirar la 15 solución de lavado. Las superficies se secan opcionalmente después de la preparación para el almacenamiento a largo plazo.

Preferiblemente, las cantidades del segundo reactivo de enlace y del reactivo de ensayo que se aplica a la zona predefinida son iguales o inferiores a la cantidad requerida para saturar la superficie. Mediante la elección de 20 cantidades aproximadamente iguales a las cantidades necesarias para saturar la superficie, puede ser posible minimizar tanto la cantidad del exceso de reactivo que no se haya unido como la cantidad de sitios que no se hayan unido y evitar de ese modo la necesidad de etapas de lavado o de bloqueo. En una forma de realización alternativa, se mantiene la cantidad del reactivo de ensayo por debajo de la cantidad de sitios de enlace disponibles en la capa 25 de captura para garantizar que la capacidad de adsorción sea determinada por la cantidad de reactivo de ensayo añadido y no por la cantidad de los segundos componentes de enlace inmovilizados (reduciendo así el efecto de la variabilidad en la eficacia de, por ejemplo, la adsorción del segundo componente de enlace).

El método puede aplicarse a la creación de una gama de dominios de ensayo que contengan reactivos de ensayo inmovilizados en una gama de zonas predefinidas. En este caso, simplemente se repite el procedimiento para cada 30 una de las zonas previamente definidas. Preferiblemente, al menos dos de los dominios de ensayo incluyen los reactivos que difieren en cuanto a la selectividad de los analitos de interés. Al crear una gama de dominios de ensayo, es particularmente conveniente bloquear el producto final con un reactivo de bloqueo que contenga el primer componente de enlace (pero no los componentes específicos del analito del reactivo de ensayo) para 35 bloquear el exceso de sitios de enlace en los segundos componentes de enlace inmovilizados; este procedimiento evita interacciones en el ensayo debido a un exceso de reactivo de ensayo sobre una zona predefinida mediante difusión y uniones, a través de interacciones entre el primer componente de enlace y el segundo componente de enlace sobre un dominio de ensayo diferente. Por ejemplo, después de utilizar el procedimiento de dos etapas de unión con avidina y luego un anticuerpo marcado con biotina, la superficie puede ser bloqueada con biotina libre. 40 Alternativamente, después de utilizar un procedimiento de dos etapas para unir la proteína A (u otro receptor que se une a Fc) y luego un anticuerpo contra un analito de interés, es posible bloquear la superficie mediante un anticuerpo diferente o, preferiblemente, un fragmento Fc de un anticuerpo.

Se ha observado que en algunos casos los reactivos de ensayo adsorbidos sobre una superficie, como una tinta de carbono pueden, con el tiempo, disociarse lentamente de la superficie. Esta disociación lleva a la presencia de 45 reactivos de ensayo libres que pueden interferir con los ensayos que emplean los reactivos de ensayo adsorbidos. Esta disociación puede desacelerarse en gran medida mediante enlaces cruzados de los reactivos de ensayo adsorbidos, de modo que las especies inmovilizadas tengan un peso molecular mayor y tengan más puntos de contacto con la superficie. En consecuencia, en el método de inmovilización anteriormente descrito, el segundo componente de enlace es, preferiblemente, entrecruzado para minimizar la disociación del reactivo durante la 50 preparación de la superficie y/o el almacenamiento. El entrecruzamiento puede realizarse mediante entrecruzamiento covalente, utilizando agentes químicos estándar de reticulación. Alternativamente, se realiza el entrecruzamiento mediante interacciones específicas de enlace. En una forma de realización preferida, el segundo componente de enlace es polivalente, (es decir, tiene varios sitios de enlace para el primer componente de enlace) y es entrecruzado mediante la combinación con un reactivo de reticulación que puede ser un primer componente de 55 enlace polivalente o una molécula que abarque varios primeros componentes de enlace. En esta forma de realización, se selecciona la cantidad del agente de reticulación de manera que sea posible proporcionar una cantidad conveniente de enlaces cruzados sin saturar los sitios de enlace de los segundos componentes de enlace. Los enlaces cruzados pueden formarse después de que el segundo componente de enlace haya sido inmovilizado, pero se forman, preferiblemente, en solución antes de la inmovilización. Ventajosamente, hemos encontrado que este 60 procedimiento de reticulación no sólo sirve para formar una superficie más estable, sino también aumenta el número de sitios de unión en la superficie (es decir, la capacidad de enlace de la superficie), permitiendo la inmovilización de más de una monocapa empaquetada del segundo componente de enlace (por ejemplo, mediante la extensión del segundo componente de enlace polimerizado a la solución).

65 A modo de ejemplo, la avidina (una proteína de enlace tetramérica con cuatro sitios de unión para la biotina) es entrecruzada para dar lugar a la poliavidina mediante la adición de una pequeña cantidad de un agente de

reticulación marcado con biotina (por ejemplo, una proteína como SAB) con múltiples sitios marcados con biotina por molécula de la proteína. Entonces se inmoviliza la poliavidina y se utiliza como una superficie de captura para inmovilizar un reactivo de ensayo marcado con biotina, por ejemplo, empleando los métodos de inmovilización anteriormente descritos. Se selecciona la cantidad de biotina-proteína para permitir el entrecruzamiento dejando suficientes sitios de unión a biotina disponibles para que se pueda usar la poliavidina inmovilizada para capturar un primer reactivo de enlace marcado con biotina (por ejemplo, anticuerpos marcados con biotina). Preferiblemente, el agente de reticulación marcado con biotina está formado por al menos dos, más preferiblemente, al menos cuatro, o más preferiblemente, al menos ocho biotinas por molécula. Preferiblemente, el número de equivalentes molares del agente de entrecruzamiento por mol de avidina está entre 0,01 y 4, preferiblemente entre 0,01 y 1, más preferiblemente entre 0,01 y 0,25, incluso más preferiblemente entre 0,05 y 0,25 y lo más preferiblemente entre 0,05 y 0,10. La concentración de la avidina que se utilizaba para la inmovilización se ubicaba preferiblemente entre 50-1000 µg/ml, más preferiblemente entre 100-800 µg/ml y lo más preferiblemente alrededor de 400 µg/ml. Por analogía, es posible sustituir la avidina en estos procedimientos por otros receptores polivalentes, específicos de biotina, como la estreptavidina.

Se realizaron experimentos para demostrar la ventaja de utilizar capas de atrapamiento de poliavidina en electrodos de tinta de carbono y/o procedimientos de inmovilización en dos etapas. Estos experimentos utilizaron electrodos de tinta de carbono serigrafiados, estructurados en un sustrato plástico. Los electrodos de trabajo tenían una zona circular expuesta de unos 3 mm² definida por una capa dieléctrica estructurada serigrafiada sobre los electrodos de tinta de carbono. El sustrato también incluía al menos un electrodo de tinta de carbono adicional para su uso como un contraelectrodo. Los reactivos fueron inmovilizados mediante la deposición (mediante un dispensador Bio-Dot) de volúmenes pequeños (200-300 nl) de una solución compuesta por el reactivo sobre la zona del electrodo expuesta (la solución fue delimitada por la capa dieléctrica a la zona del electrodo expuesta) y se dejó que la solución se seca en el electrodo. La poliavidina se preparó combinando cantidades apropiadas de avidina y biotina-SAB y con una incubación de 15 minutos. Después de la inmovilización y/o las etapas de lavado (como se describe a continuación), el sustrato fue acoplado a la parte superior de una placa multi-pocillos para formar la superficie inferior, o bien se acopló mediante una junta a base de una cinta adhesiva-doble a una lámina de plástico, como para formar la superficie inferior de una celda de flujo de un cartucho de ensayo. Las superficies de los electrodos se pusieron en contacto con una solución tamponada que contenía tripropilamina (solución amortiguadora de ensayo MSD, casa MSD), agregando la solución amortiguadora a una placa multi-pocillos o introduciendo la solución amortiguadora en la celda de flujo. Se indujo EQL mediante la aplicación de un voltaje entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo (rampa de 2-5 V durante 3 segundos). Se midió EQL tomando una imagen del sustrato con una cámara CCD refrigerada.

Los electrodos se recubrieron con avidina (mediante tratamiento con 200 nl de una solución de avidina de 75 µg/ml) o con poliavidina (mediante tratamiento con 200 nl de una solución que contenía avidina de 75 µg/ml y 3,1 µg/ml de SAB marcada con biotina y dejando que las soluciones se secan durante la noche; la SAB estaba marcada con un exceso de 4 veces de ésteres de sulfo-NHS-LC-biotina y tenía una proporción esperada de biotinas por SAB de aproximadamente 2-3). Los sustratos se lavaron con agua y los electrodos fueron tratados a continuación con 300 nl de una solución que contenía 100 µg/ml de un anticuerpo anti-TSH marcado con biotina. Los electrodos se lavaron con agua, se montaron en un cartucho en el que se introdujo una solución que contenía 20 µUI/ml de TSH y 12 µg/ml de un anticuerpo anti-TSH que estaba marcado con un éster de sulfo-TAG NHS (casa MSD), un marcador electroquimioluminescente. El cartucho se incubó durante 8 minutos para permitir que tuviera lugar la reacción de unión, a continuación, se lavó el sustrato mediante la introducción de solución amortiguadora de ensayo MSD en la celda de flujo y se midió la EQL. El promedio de la intensidad de electroquimioluminiscencia emitida del electrodo tratado con poliavidina (1652 unidades) fue aproximadamente tres veces mayor que la del electrodo tratado con avidina (602 unidades). Sin pretender imponer ninguna teoría, se cree que la señal más alta del electrodo tratado con poliavidina representa un aumento en el número de sitios de unión en el electrodo tratado con poliavidina y/o una reducción en la cantidad de avidina que lava el electrodo de poliavidina por completo y se adsorbe en otras superficies del cartucho (por lo tanto, compite con los sitios de unión en el electrodo).

En un experimento similar, se comparó la adsorción directa de un anticuerpo anti-TSH (mediante el tratamiento del electrodo con una solución de 100 µg/ml de un anticuerpo anti-TSH) con la inmovilización a través de una capa de poliavidina (como se describió anteriormente, salvo que la solución de poliavidina contenía 400 µg/ml de avidina y 25 µg/ml de biotina-SAB y el anti-TSH marcado con biotina estaba a una concentración de 100 µg/ml). Los resultados mostraron que la señal obtenida mediante la inmovilización vía poliavidina (2207) fue aproximadamente el doble de la obtenida mediante adsorción directa (1264). Además, se constató que el protocolo de inmovilización en dos etapas proporciona resultados más precisos; los coeficientes de variación (CV) fueron tres veces inferiores cuando se empleaba el método en dos etapas.

Se siguieron caracterizando las capas de poliavidina mediante el uso de avidina marcada con un marcador electroquimioluminescente (en promedio 0,3 sitios marcados con sulfo-TAG NHS por proteína). Los electrodos se trataron con una de las tres soluciones: (i) avidina a 75 µg/ml, (ii) avidina a 75 µg/ml y SAB a 25 µg/ml o (iii) avidina a 75 µg/ml y biotina-SAB a 25 µg/ml. Todas las soluciones contenían un 0,0035 % de Triton X-100. Los electrodos se lavaron con agua, se sumergieron en la solución amortiguadora del ensayo MSD, y se midió la intensidad de EQL. El electrodo tratado con todos los componentes de poliavidina (avidina y biotina-SAB) dio una señal EQL (150 981) que

fue aproximadamente el doble de la que se observó con avidina sola (85 235) o con avidina en combinación con SAB no marcada (65 570), con lo que se demostró que la reticulación era necesaria para el mejor rendimiento de la poliavidina. También se observó que la intensidad de la EQL estuvo distribuida de manera mucho más uniforme por todo el electrodo en los electrodos de poliavidina en comparación con los demás electrodos.

En otro experimento, las capas de avidina o poliavidina marcadas e inmovilizadas i) no se lavaron, o ii) se expusieron a una solución que contenía SAB durante 2 horas y luego se lavaron profusamente con solución amortiguadora de fosfato salino. En este experimento, la concentración de avidina fue de 0,5 mg/ml, la proporción de avidina respecto a biotina-SAB fue de 16:1, y la avidina marcada se mezcló con avidina sin marcar (en una proporción de 1:100) para reducir el total de señales. El experimento se realizó tanto en electrodos no tratados como en electrodos tratados con plasma de oxígeno. La tabla 5, a continuación, muestra que el uso de poliavidina ha reducido considerablemente la pérdida de avidina de la superficie después de un lavado extenso y la exposición a soluciones que contienen proteínas.

Tabla 5.

	Electrodos no modificados				Electrodos tratados con plasma			
	Avidina		Poliavidina		Avidina		Poliavidina	
	Señal	Porcentaje restante	Señal	Porcentaje restante	Señal	Porcentaje restante	Señal	Porcentaje restante
Sin lavado	21 107		26 618		10 871		18 512	
Lavado	9545	45	18 845	71	3332	31	14 024	76

Después de inmovilizar los reactivos de ensayo en superficies para el uso en ensayos de fase sólida (por ejemplo, aplicando soluciones que contienen reactivos de ensayo para las superficies, siendo lo más preferible, mediante deposiciones estructuradas de estas soluciones para formar una matriz de dominios de ensayo que contienen los reactivos de ensayo), el rendimiento del ensayo a menudo se mejora mediante el lavado de los electrodos de ensayo para eliminar los reactivos de ensayo que no se hayan unido. Este paso de lavado es particularmente importante cuando el reactivo de ensayo que no se ha unido puede interferir con un ensayo (por ejemplo, los anticuerpos que no se han unido pueden interferir al competir con la captura de los analitos a los anticuerpos en la superficie). Preferiblemente, se realiza esta etapa de lavado mediante un procedimiento que minimiza la capacidad de adsorción de los reactivos que no se hayan unido en otros lugares inapropiados. Por ejemplo, después de la inmovilización de un anticuerpo en un dominio de ensayo en un electrodo en un módulo de ensayo, la etapa de lavado minimizará, preferiblemente, la absorción de anticuerpos que no se hayan unido a una superficie que no sea del electrodo (los anticuerpos adsorbidos a superficies que no son de electrodos que interfieren con ensayos de unión al competir por la unión del analito con un anticuerpo inmovilizado en el electrodo). Lo que es aún más importante, en las mediciones de tipo matriz que afectan a una gama de dominios de ensayo específicos para los distintos analitos de interés, la etapa de lavado debería minimizar la difusión de un reactivo de ensayo que no se haya unido de un dominio de ensayo y su adsorción en un dominio de ensayo distinto (este proceso conduce a interacciones de ensayo).

Hemos constatado que podemos evitar la adsorción no conveniente de reactivos de ensayo fuera de las ubicaciones predefinidas mediante el lavado localizado de dominios de ensayo utilizando un accesorio que consiste en un tubo concéntrico para dispensar/aspirar. Las figs. 7a y 7b muestran una forma de realización en la que se construyó un accesorio de lavado que consta de una única estructura de tubo concéntrico que puede usarse para lavar un único dominio de ensayo en un módulo de ensayo o para lavar múltiples dominios de ensayo en un módulo de ensayo de forma secuencial, colocando la estructura de tubo concéntrico sobre cada uno de los electrodos de ensayo. Debe entenderse, sin embargo, que esto no se limita a un solo dispositivo de tubo concéntrico, sino que puede emplear, preferiblemente, un conjunto de tubos concéntricos, preferiblemente, dispuestos en el mismo patrón y espaciamiento como los dominios de ensayo. Preferiblemente, se dispensa el líquido de lavado mediante un tubo interior 705 y se aspira mediante un tubo exterior 710. Durante el funcionamiento, cuando el líquido pasa del interior del tubo al exterior, pasa preferiblemente por encima de la superficie del dominio de ensayo, lavando el dominio de ensayo en un área limitada por el diámetro del tubo exterior. La figura muestra el tubo concéntrico utilizado para lavar un electrodo de tinta de carbono 720 estructurado sobre el sustrato 730, y la superficie expuesta del electrodo 720 está definida por una capa dieléctrica estructurada 725 que actúa como límite para formar una región de contención de líquidos en el electrodo 720. Por analogía, los tubos concéntricos pueden utilizarse para lavar los dominios de ensayo sobre una variedad de otras superficies, los dominios de ensayo están definidos, preferiblemente pero no necesariamente, por una barrera de líquido. Los tubos están preferiblemente configurados de modo que el tubo exterior elimine el líquido con una eficacia suficientemente alta, a fin de prevenir la propagación del líquido hacia zonas fuera del dominio del lavado, en formas de realización alternativas; las funciones de los tubos interiores y exteriores también pueden invertirse de manera que el líquido de lavado se dispense a través del tubo exterior y se aspire por el centro a través del tubo interior. Estas disposiciones de tubos impiden que los reactivos de ensayo que no se hayan unido en los dominios de ensayo entren en contacto con otras superficies del módulo de ensayo.

- En otra forma de realización alternativa, se utiliza una estructura de tubo con tres tubos concéntricos para estructurar y lavar los reactivos de ensayo en los dominios de ensayo. Para microdispensar los reactivos de ensayo en un dominio de ensayo, se utiliza un primer tubo (preferiblemente el tubo interior). Este tubo está preferiblemente unido a un controlador dispensador de líquidos de bajo volumen como una microjeringa (opcionalmente, con un controlador de flujo de válvula de solenoide) o dispensador piezoeléctrico. El segundo tubo (preferiblemente el tubo del medio) se utiliza para dispensar los reactivos de lavado a granel en el dominio de ensayo. El tercer tubo (preferiblemente el tubo exterior) se usa para aspirar el exceso de reactivo de ensayo y/o lavar reactivos del dominio de ensayo. Mediante esta disposición, puede utilizarse un solo dispositivo para dispensar reactivos de ensayo sobre un dominio de ensayo (p. ej., como para provocar la inmovilización localizada del reactivo de ensayo sobre el dominio de ensayo) y lavar el exceso de reactivo de ensayo de esos dominios de ensayo; estas operaciones tienen lugar sin la contaminación de las superficies adyacentes con el reactivo de ensayo. Opcionalmente, se utiliza un conjunto de estos dispositivos para estructurar y lavar una serie de dominios de ensayo.
- La invención se refiere a cartuchos de ensayo. Un ensayo incorpora uno o varios componentes de fluidos como compartimentos, pocillos, cámaras, conductos de fluidos, puertos/orificios de fluidos, válvulas, y/o uno o varios componentes de detección como electrodos, contactos de electrodos, sensores (por ejemplo, sensores electroquímicos, sensores de fluidos, sensores de masa, sensores ópticos, sensores capacitivos, sensores de impedancia, guías de ondas ópticas, etc.), ventanillas de detección (por ejemplo, ventanillas configuradas para permitir mediciones ópticas de muestras en el cartucho como las mediciones de absorbancia, dispersión de la luz, refracción de la luz, reflejo de luz, fluorescencia, fosforescencia, quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia, etc.) y similares. Un cartucho puede contener también los reactivos para la realización de un ensayo como reactivos de unión, marcadores detectables, reactivos de procesamiento de muestras, soluciones de lavado, soluciones amortiguadoras, etc. Los reactivos pueden estar presentes en forma de líquido, sólido y/o inmovilizados en la superficie de la fase sólida de soportes presentes en el cartucho. Ciertas formas de realización preferidas, incluyen cámaras de detección con matrices de electrodos y/o dominios de unión como se ha descrito anteriormente (por ejemplo, las matrices de electrodos descritas en las figuras 1-4).
- Los componentes de fluidos están preferiblemente diseñados e incorporados en el cuerpo del cartucho para formar la red de fluidos empleando ciertas pautas de diseño predefinidas. Las directrices de diseño para cada componente pueden depender de uno o varios factores como, por ejemplo, el diseño del cuerpo del cartucho (es decir, un cuerpo de una sola pieza, un cuerpo de varias piezas, un cuerpo modular, una única cámara de lectura, varias cámaras de lectura, etc.), el proceso de fabricación (por ejemplo, moldeo por inyección, moldeo por soplado, estampación en caliente, fundición, mecanizado, etc.), los materiales (por ejemplo, acrílico, PVDF, PET, poliestireno, polipropileno y similares), los requisitos del ensayo (por ejemplo, ensayos de unión, ensayo de unión competitiva, ensayo de una sola etapa, ensayo de dos etapas, etc.), requisitos funcionales (por ejemplo, el tamaño de la muestra de ensayo, los volúmenes de reactivos, la tecnología de detección, el tiempo para obtener resultados, la incubación, calentamiento, mezclado/agitación, seguridad/requisitos de manipulación (por ejemplo, autocontención, aprobación de registro sanitario, facilidad de uso, etc.) y/o similares.
- El profesional experto podrá seleccionar fácilmente los materiales adecuados para la fabricación de los cartuchos. Los materiales adecuados incluyen vidrio, cerámica, metales y/o plásticos tales como polímeros acrílicos (tales como Lucite), resinas de acetal (como Delrin), fluoruro de polivinilideno (PVDF), politereftalato de etileno (PET), el politetrafluoroetileno (por ejemplo, teflón), poliestireno, polipropileno, ABS, PEEK y similares. Preferiblemente, los materiales son inertes a cualquier solución/reactivo que entre en contacto con ellos durante su uso o el almacenamiento del cartucho. En ciertas formas de realización preferidas, al menos una parte del cartucho es fabricada a partir de materiales transparentes y/o translúcidos como el vidrio o polímeros acrílicos para proporcionar ventanillas que permitan la exploración óptica de líquidos o superficies dentro del cartucho, por ejemplo, para el análisis de las composiciones dentro de las cámaras de detección del cartucho o para supervisar y controlar el movimiento de líquidos a través de las redes de fluidos definidas dentro del cartucho.
- Una forma de realización preferida es un cartucho que incluye una o varias cámaras de muestra, una o varias cámaras de detección (preferiblemente, cámaras de detección adaptadas para el uso en mediciones de EQL como se describió anteriormente) y una o varias cámaras de residuos. Las cámaras están conectadas en serie por conductos de fluidos, de modo que una muestra introducida en una cámara de muestras puede ser entregada a una o varias cámaras de detección para el análisis y, a continuación, pasa a una o varias cámaras de residuos para su eliminación. Preferiblemente, este cartucho también incluye una o varias cámaras de reactivo para almacenar reactivos líquidos; las cámaras de reactivo están conectadas a través de conductos hacia los demás componentes, con el fin de permitir la introducción de los reactivos líquidos a las cámaras de muestras o de detección especificadas. El cartucho también puede incluir puertos de ventilación en comunicación de los fluidos con la muestra, cámaras de detección y/o de residuos (directamente o a través de los conductos de ventilación), como para permitir el equilibrio de los líquidos en las cámaras con el entorno o para permitir el movimiento dirigido de líquido hacia dentro o fuera de una cámara especificada por la aplicación de una presión positiva o negativa.
- En una forma de realización alternativa, una cámara de muestras y una cámara de residuos están colocadas delante de una cámara de detección y poseen un primer y un segundo conducto de entrada/salida (preferiblemente, una

cámara de detección tiene una forma alargada, y los conductos de entrada/salida están colocados en o cerca de los extremos opuestos de la dimensión alargada). El cartucho está configurado para permitir la introducción de la muestra en la cámara de detección a través del primer conducto de entrada/salida y luego la inversión del flujo para dirigir la muestra de líquido hacia fuera del primer conducto de entrada/salida y hacia la cámara de residuos.

- 5 Preferiblemente, se encuentra una cámara de reactivos en la parte descendente de la cámara de detección y el cartucho está configurado para permitir la introducción del reactivo a la cámara de detección a través del segundo conducto de entrada/salida (es decir, en «el flujo inverso» relativo a la introducción de la muestra). Esta modalidad es particularmente apropiada para mediciones que sufren una fuerte interferencia de la muestra, siendo la corriente inversa especialmente eficaz en el lavado de la muestra residual de la cámara de detección. Esta forma de realización es especialmente conveniente en ensayos de marcadores basados en EQL (por ejemplo, marcadores de la pared celular de las bacterias grampositivas) en muestras que contengan una solución amortiguadora de extracción que contiene ácido nítrico (véase, por ejemplo, los métodos de extracción y reactivos que se dan a conocer en la solicitud de patente estadounidense provisional US 60/436,591, presentada el 26/12/2002, titulada "Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction"). Una forma de realización preferida utiliza un cartucho 10 configurado con un lavado de flujo inverso para llevar a cabo un ensayo de unión con EQL para un grupo de patógenos de las vías respiratorias superiores que incluye especies estreptococicas y opcionalmente otros patógenos como los virus de la influenza tipo A y B, y el virus sincicial respiratorio (preferiblemente mediante el empleo de una variedad de anticuerpos contra los marcadores de los patógenos, y la matriz está preferiblemente 15 formada por uno o varios electrodos, más preferiblemente una matriz de electrodos como se describe más arriba y 20 en las figuras 1-4).

El lavado de flujo inverso reduce significativamente los efectos nocivos del ácido nítrico en mediciones de EQL. En formas de realización preferidas, la eficacia del lavado es tal que la fracción de la muestra (o reactivo) que permanece en una cámara de detección después de un lavado es inferior a 1/1000; más preferiblemente inferior a 25 1/10 000, más preferiblemente aún inferior a 1/100 000.

La cámara de muestras es una cámara definida dentro de un cartucho que está adaptada para acoger una muestra que va a ser analizada en el cartucho. La cámara de muestras incluye un orificio de introducción de muestras para introducir la muestra en la cámara. El orificio es preferiblemente una apertura en el cartucho que proporciona acceso 30 a la cámara de muestras. Alternativamente, el orificio puede ser una membrana o tabique a través del que se puede inyectar una muestra a la cámara de muestras, por ejemplo, mediante el uso de una aguja o cánula. Preferiblemente, el cartucho incluye también un cierre sellable para el sellado del orificio de introducción de muestras y evitar las fugas de la muestra y la posible exposición de los usuarios y/o instrumentos asociados a riesgos biológicos. Preferiblemente el mecanismo de sellado/cierre con tapa utiliza una configuración articulada de 35 modo que la cámara de muestras es fácilmente accesible y sellada. En formas de realización especialmente preferidas, el mecanismo de sellado/cierre con tapa incorpora un mecanismo de bisagra flexible, por ejemplo, caucho, plástico o similares. Más preferiblemente, la cámara de muestras está adaptada y configurada para recibir un inserto modular desmontable que incluye una tapa para el sellado de la cámara de muestras. El uso de un inserto modular desmontable dentro de la cámara de muestras permite también la selección independiente de materiales 40 para el cuerpo del cartucho principal. En una forma de realización alternativa, se consigue el sellado del orificio de introducción de muestras aplicando una cinta adhesiva al orificio. La cámara de muestras puede contener reactivos secos que se utilizan para llevar a cabo el ensayo, y que se reconstituyen al agregar una muestra líquida. Opcionalmente, la cámara de muestras contiene un agente antiespumante para evitar la formación de espuma en la muestra dentro del cartucho.

45 En una forma de realización, el mecanismo de sellado/cierre con tapa consta de un mecanismo de seguro para impedir que el mecanismo de sellado/cierre con tapa se abra durante el uso. Más aún, el mecanismo de sellado/cierre con tapa puede incluir un componente de retención para evitar que el mecanismo sea expulsado del cartucho. Por ejemplo, el mecanismo podría incluir un anillo de retención o lengüetas de retención adheridos o 50 moldeados al cuerpo del mecanismo para asegurar el mecanismo dentro del puerto. Opcionalmente, el puerto tiene salientes que fijan los elementos de retención en su lugar una vez insertado el tapón en el cuerpo del cartucho. En las figs 35a-b se muestra un ejemplo del mecanismo de sellado/cierre con tapa. Como se muestra en la fig. 35a para la tapa 3500, el mecanismo de sellado/cierre con tapa es opcionalmente fabricado como una sola unidad, por ejemplo, moldeado a partir de un material elastómero termoplástico. La fig. 35a muestra una forma de realización del 55 componente de retención, 2391, que consta de dos lengüetas de sujeción moldeadas al cuerpo del mecanismo de sellado/cierre con tapa. La fig. 35b ilustra un mecanismo de seguro, 2392, que puede utilizarse para el mecanismo de sellado/cierre con tapa.

60 La cámara de muestras está conectada a un conducto de muestras para la transferencia de líquidos desde la cámara de muestras a otros componentes de fluidos en el cartucho. La cámara de muestras también puede estar conectada a un puerto de ventilación y/o una cámara de reactivos (p. ej., a través de conductos de fluidos). En una configuración preferente para la recepción de muestras líquidas, la cámara de muestras está conectada a un conducto de muestras y a un puerto de ventilación. La figura 27 muestra una sección transversal de una forma de realización preferida. La cámara de muestras 2710 tiene un orificio para la introducción de muestras 2720 y está 65 conectada a un conducto de muestras 2730 y a un puerto de ventilación 2740 (a través del conducto de ventilación 2750). El conducto de muestras 2730 está ventosamente dispuesto para cruzar la cámara de muestras 2710 en o

cerca de la parte inferior de la cámara (en relación a la orientación del cartucho durante la operación), así como para permitir una transferencia eficaz de una amplia fracción del volumen de muestra sin la introducción de burbujas. El conducto de ventilación 2750 está ventajosamente dispuesto para cruzar la cámara de muestras 2710 por encima del conducto de muestras 2730 y a una altura que sea superior a la altura del nivel de llenado esperado para evitar una posible contaminación del instrumento y/o escape del líquido de muestra. Preferiblemente, el conducto de ventilación 2750 dispone de suficiente volumen en el conducto de fluidos, de modo que una pequeña cantidad de líquido de la muestra, por ejemplo, como es el caso si la muestra es espumosa o tiene burbujas, pueda entrar en el conducto sin ser arrastrada hacia el puerto de ventilación 2740. En una forma de realización, tal como se ilustra en la fig. 9, puede colocarse un pocillo/colector 975 dentro del conducto de fluidos. En otra forma de realización, tal y como se ilustra en la fig. 20, puede ampliarse/prolongarse el conducto de fluidos, por ejemplo, mediante el uso de una configuración en serpentina 2030.

La tapa 2760 puede utilizarse para sellar el orificio de introducción de muestra 2720 sin impedir el flujo de aire a través del conducto de ventilación 2750. En la figura 27, los compartimentos y conductos de fluidos están formados por cavidades (por ejemplo, canales) o perforaciones en el cuerpo del cartucho 2770 y por la capa de cubierta 2780 que está sellada frente al cuerpo del cartucho 2770. La cámara de muestras 2710 tiene un saliente interno 2790. El conducto de ventilación 2750 incluye un agujero vertical desde la parte inferior del cuerpo del cartucho 2770 hacia la cara superior del saliente 2790. Esta construcción prevé un proceso de fabricación simplificado que es susceptible de moldeo por inyección o de mecanizado del cuerpo del cartucho; otras construcciones de los conductos de ventilación serán obvias para los trabajadores expertos en la materia.

Las figs. 47(a)-(c) ilustran una forma de realización alternativa de una cámara de muestras que incluye una función para prevenir el llenado excesivo de la cámara y un elemento para ofrecer al usuario una indicación visual del nivel de líquido en la cámara. En una forma de realización, el cartucho de ensayo incluye una cámara de muestras, una ventanilla indicadora de la muestra, una superficie reflectante y un trayecto óptico que conecta la cámara de muestras, la ventanilla indicadora de la muestra y la superficie reflectante. La figura muestra la cámara de muestras desde arriba (fig. 47(a)) y como corte transversal (fig. 47(b)). La cámara de muestras 4700 incluye un pocillo para la muestra 4720 con un orificio para la introducción de muestra con una tapa sellable 4722, que puede tener funciones de bloqueo como se ha descrito más arriba para la tapa 3500. La cámara de muestras 4700 está unida a un conducto de muestras 4730, que se utiliza para transferir la muestra desde la cámara de muestras a otros componentes de fluidos de un cartucho para el procesamiento de muestras (por ejemplo, como se describe para los cartuchos 900, 1400, 2500, 3200 y 3700). El conducto de muestras está organizado para cruzar la cámara de muestra por debajo de la altura esperada de la muestra y, preferiblemente, en o cerca de la parte inferior de la cámara. El conducto de muestras puede incluir un perfil adaptador en Z, otra rotura capilar o elemento de válvula (no se muestra).

La cámara de muestras 4700 está también unida al conducto de rebose de muestra 4740, que se cruza con la cámara por encima del nivel del volumen de la muestra requerido por el cartucho y que conecta la cámara de muestras con el rebosadero 4742. El rebosadero 4742 se descarga a través del conducto de ventilación 4750 (que, preferiblemente, se conecta en o cerca de la parte superior del rebosadero) al puerto de ventilación de la muestra (no se muestra). Si durante la añadidura de muestra el usuario accidentalmente añade demasiada muestra, se vacía el exceso de muestra en el rebosadero en lugar de saturar la cámara de muestras y contaminar la parte superior del cartucho.

La cámara de muestras 4700 también proporciona una ventanilla indicadora de la muestra 4770 que permite al usuario ver el nivel de una muestra de líquido en la cámara de muestras. Una superficie reflectante, por ejemplo, una superficie de espejo 4772 en el cuerpo del cartucho está colocada de tal manera que se refleja una vista lateral de la cámara (que indica el nivel de la muestra en la cámara) hacia la ventanilla indicadora. La figura 47 indica un volumen de muestra en la cámara de muestras (la muestra se representa con líneas cruzadas y la parte superior del volumen de la muestra está representada, en vista lateral, como una línea negra oscura) y también indica el nivel del líquido, tal y como sería observado por un usuario que mira la ventanilla indicadora de la parte superior del cartucho. La ventana del visor puede tener elementos indicadores, como una línea indicadora 4772, que indica el nivel mínimo, máximo u objetivo de la muestra requerida. Por ejemplo, la ventanilla indicadora puede incluir una o varias líneas indicadoras que reflejan el nivel de líquido dentro de la cámara de muestras, por ejemplo, un nivel mínimo de la muestra, un nivel máximo de la muestra, un nivel objetivo o deseado, y combinaciones de los mismos. La ventanilla indicadora puede tener una o varias líneas indicadoras. Alternativamente, es posible señalar los volúmenes mínimos y/o máximos establecidos de las muestras mediante las delimitaciones de la ventanilla indicadora (por ejemplo, el usuario puede recibir instrucciones para agregar muestra hasta que se vea la parte superior de la muestra en la ventanilla indicadora).

Por lo tanto, el uso de un cartucho de ensayo que incluye una ventanilla indicadora permite al usuario determinar un nivel de líquido conveniente en el cartucho de ensayo. Brevemente, el usuario añadiría un volumen de líquido a la cámara de muestras. El nivel de líquido se refleja a través del trayecto óptico a la ventanilla indicadora. El usuario puede ver el nivel de líquido en la ventanilla indicadora de la muestra y comparar el nivel de líquido que visualiza en la ventanilla en relación con un elemento indicador en la ventanilla. En una forma de realización, la ventanilla incluye

una línea que indica una muestra mínima, una muestra máxima, y/o un nivel objetivo de líquido, y el usuario puede ver el nivel de líquido de la cámara de muestras en relación con el elemento indicador en la ventanilla.

Como se muestra por la línea punteada en la figura 47b, un cartucho que consta de una cámara de muestras 4700 5 tiene un trayecto óptico desde la muestra en el pocillo de muestras hasta la superficie de espejo 4772, y hasta la ventanilla indicadora. El trayecto óptico debe ser transparente al menos para una parte del espectro de la luz visible y, preferiblemente, transparente a la luz visible. La superficie de espejo 4772 puede ser una superficie reflectante. En una forma de realización de la cámara de muestras 4700, el espejo 4772 es proporcionado por reflexión total 10 interna en una superficie dispuesta en ángulo en el cuerpo del cartucho, y el ángulo se ajusta para que el ángulo de incidencia a lo largo del camino óptico sea mayor que el ángulo crítico para la reflexión total interna en la interfase. Como se muestra en la figura, es posible proporcionar una superficie totalmente reflectante en el interior mediante la 15 incorporación de una cavidad en el cuerpo del cartucho con una superficie dispuesta en ángulo en relación con el trayecto óptico (por ejemplo, la cavidad 4774), de tal manera que la luz que pasa por el cuerpo del cartucho golpee la interfase aire-cuerpo en la superficie de la cavidad y se refleje. Un experto en la materia será capaz de seleccionar los ángulos de incidencia para materiales específicos. En ciertas formas de realización, se elige un ángulo de 20 incidencia que sea mayor o igual a 43°, un valor que proporcionará la reflexión total interna en la interfase aérea para una amplia variedad de materiales de ingeniería transparentes con índices de refracción superiores o iguales a 1,46 incluyendo muchos cristales de sílice y plásticos que se utilizan en el moldeo por inyección (como el poliestireno y el polimetilmetacrilato). Preferiblemente, se elige un ángulo de incidencia que sea de 45° para proporcionar la reflexión en un ángulo recto (como se muestra en la figura).

En una forma de realización no limitativa de la cámara de muestras 4700, se incluye la cámara de muestras dentro 25 de un cartucho moldeado por inyección de múltiples partes, utilizando un enfoque de diseño similar al mostrado para el cartucho 1400 en la fig. 14. En la fig. 47c, se muestra un diseño multi-partes adecuado que consta de un cartucho superior, un cartucho inferior y una capa de cubierta acoplada a la parte inferior del cartucho (las líneas discontinuas en el gráfico se utilizan para mostrar, desde el punto de vista conceptual, una manera de dividir el diseño en sus componentes). Opcionalmente, el trayecto óptico del espejo a la ventana es proporcionado por una sola pieza 30 moldeada por inyección, por ejemplo, el cartucho de la parte superior de la fig. 47c. Cabe señalar que, mientras que las figs. 47b y 47c muestran el trayecto óptico y los conductos 4720 y 4740 como si estuvieran en el mismo plano; esta disposición no es un requisito y, por ejemplo, todos o algunos de estos componentes pueden estar inclinados 35 hacia dentro o hacia fuera del plano del diagrama.

En una forma de realización de la cámara de muestras, se omite un puerto de ventilación independiente y un 40 conducto de ventilación, y el orificio para la introducción de muestra también ofrece un puerto de ventilación, por ejemplo, la apertura del orificio para la introducción de muestra también actúa como un puerto de ventilación. El puerto de ventilación también puede ser proporcionado a través de la parte superior del mecanismo de sellado/cierre con tapa, por ejemplo, mediante la incorporación de un orificio de ventilación en la parte superior de la superficie del mecanismo de sellado/cierre con tapa. Una forma de realización alternativa puede emplear un esquema mediante el 45 cual el propio lector de cartuchos puede incluir un mecanismo punzante/de vaciado que esté adaptado y configurado para atravesar la superficie superior del mecanismo de sellado/cierre con tapa flexible. En una forma de realización particularmente preferida, el mecanismo de sellado/cierre con tapa está adaptado y configurado para ser auto-sellado tras la retirada/eliminación del mecanismo punzante/de vaciado, por ejemplo, mediante el uso de una membrana preferiblemente compuesta de un material elastómero. La ventaja del mecanismo de auto-sellado es que la muestra no se puede salir de la cámara de muestras una vez que el mecanismo punzante/de vaciado haya sido eliminado.

La cámara de muestras puede incluir también un filtro para, por ejemplo, eliminar las partículas que puedan estar 50 presentes en la muestra en sí o que puedan estar presentes como resultado del uso de un hisopo o similares para introducir la muestra en la cámara de muestras. Una forma de realización preferida puede emplear un filtro que no sólo elimina las partículas, sino que también está indicado para separar los glóbulos rojos (R.BC, por sus siglas en inglés) del plasma sanguíneo: por ejemplo, cuando el ensayo específico/formato de ensayo requiere plasma sanguíneo como muestra. Ese filtro puede ser un filtro integral de flujo cruzado, un filtro en línea o similares. Preferiblemente, el filtro se coloca en o cerca de la entrada del conducto de muestras.

55 En una forma de realización preferida para la extracción de analitos de una matriz sólida o una matriz que incluye sólidos (por ejemplo, para la extracción de analitos de un material absorbente (por ejemplo, una bola de algodón, un pedazo de papel de filtro, etc.), una varilla aplicadora, suciedad, alimentos, lodo, heces, tejidos, etc.), la cámara de muestras está conectada a una cámara de reactivos (por ejemplo, a través de un conducto de reactivos) que incluye un reactivo de extracción, por ejemplo, un reactivo de extracción que se da a conocer en la solicitud de patente estadounidense provisional 60/436,591, presentada el 26/12/2002, titulada "Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction". El término «varilla aplicadora» se utiliza aquí para referirse a un dispositivo de recogida de muestras que comprende un mango alargado (preferiblemente una varilla o un prisma rectangular) y un cabezal de recogida de muestras (preferiblemente uno que esté formado por un material absorbente o, alternativamente, una pala raspadora) configurada para la recogida de muestra de una superficie o de tejido biológico) e incluye hisopos 60 para la recogida de muestra y raspadores de tejido. El conducto de reactivos y el conducto de muestras, preferiblemente, están colocados para cruzar la cámara de muestras en o cerca de los extremos opuestos de la

cámara, de modo que el reactivo introducido a través del conducto de reactivo es arrastrado por la muestra antes de pasar al conducto de muestras. Preferiblemente, la cámara de muestras tiene una forma alargada en la que los dos conductos están colocados para cruzarse en o cerca de los extremos opuestos de la longitud. La cámara de muestras también puede incluir un filtro, tal como se ha descrito anteriormente, para la eliminación de material sólido. La extracción de analitos de materiales sólidos y, en particular, las mallas porosas como las que se pueden encontrar en los cabezales de los hisopos pueden conducir a la introducción de burbujas y cámaras de aire en la corriente de líquido resultante. Preferiblemente, la cámara de muestras o los componentes de fluidos posteriores (por ejemplo, el conducto de muestras) incluyen un colector de burbujas para eliminar el aire introducido durante la fase de extracción.

La figura 28 muestra una sección transversal de una forma de realización como ejemplo de una cámara de muestras para extraer analitos de una matriz sólida o de una matriz que contiene sólidos. La cámara de muestras alargada 2810 tiene un orificio de introducción de muestra 2820 dotado con un cierre sellable tal como se ha descrito anteriormente. La cámara de muestras que se presenta alberga una varilla aplicadora, un hisopo específico 2830 con un cabezal absorbente 2835. El conducto de reactivos 2840 y el conducto de muestras 2845 están colocados para cruzar la cámara de muestras 2810 en lados opuestos del cabezal del hisopo 2835 para que el reactivo de extracción introducido por el conducto de reactivo 2840 pase a través de un cabezal de hisopo 2835 antes de entrar al conducto de muestras 2845. Opcionalmente, puede incluirse un elemento de filtro 2848, para eliminar las partículas de la muestra extraída. Preferiblemente, el ancho de la cámara de muestras 2810 en la zona que rodea el cabezal de una varilla aplicadora insertada es inferior a dos veces (preferiblemente inferior a 1,5 veces, más preferiblemente inferior a 1,2 veces, siendo lo más preferible inferior o igual a 1,0 vez) la anchura de la zona más amplia de la varilla aplicadora que debe pasar a través de esa zona durante la inserción de la varilla aplicadora. Alternativamente, el área transversal de la cámara de muestras 2810 en la zona que rodea el cabezal de una varilla aplicadora insertada es menos que cuatro veces (preferiblemente, inferior a 2 veces, más preferiblemente inferior o igual a 1,0 vez) el área transversal de la región más amplia de la varilla aplicadora que debe pasar a través de esa región. Cuando se utiliza para extraer muestras de materiales porosos compresibles (por ejemplo, un bastoncillo de algodón con un cabezal poroso y compresible), se elige la anchura de la cámara de muestras de manera que el ancho alrededor del cabezal de la varilla aplicadora sea suficientemente estrecho, de modo que el material llene la mayor parte o la totalidad de la anchura de la cámara (asegurando el flujo más eficiente de la solución amortiguadora de extracción por el material), pero lo suficientemente amplio para que el material pueda insertarse fácilmente sin necesidad de un uso excesivo de fuerza y sin causar fugas de líquido en el material sobre las superficies exteriores del cartucho (opcionalmente, pueden lograrse ambas propiedades mediante el uso de una cámara que, con respecto a un varilla aplicadora asentada sea más estrecha en la zona que rodea el cabezal que en la región que rodea al eje). Ventajosamente, el sellado del puerto de muestras 2820 impide la liberación de aire desde ese extremo de la cámara de muestras 2810 y evita un flujo excesivo del reactivo de extracción lejos del conducto de muestras 2845. Opcionalmente, el hisopo 2830 y/o la cámara 2810 están diseñadas para que el hisopo 2830 entre completamente en la cámara 2810. Alternativamente (como se muestra), una varilla aplicadora es demasiado larga para caber en la cámara 2810 (p. ej., la longitud de un hisopo necesaria para la recogida de muestra de mucosa de la garganta o de la cavidad nasal puede ser demasiado larga para caber en el formato esperado de un cartucho) pero se parte (p. ej., se rompe, se fractura, se corta o se separa de alguna manera) antes o, preferiblemente, después de su introducción en la cámara 2810 para producir un fragmento de varilla acortada que consta de un cabezal para la recogida de muestra. El fragmento acortado es lo suficientemente corto para entrar en la cámara 2810 y permitir que se cierre 2825 para ser sellada. En ciertas formas de realización, el hisopo está diseñado para permitir un fácil desprendimiento por tener, por ejemplo, un cabezal desmontable de forma reversible o mediante la inclusión de un punto débil en el eje que permite una fácil fractura del eje.

Una forma de introducir una varilla aplicadora como el hisopo 2830 en la cámara de muestras 2810 incluye i) su introducción en la cámara 2810; ii) la fractura del eje del hisopo para formar un segmento del cabezal (que incluye el cabezal) y un segmento del eje y iii) el sellado del segmento del cabezal en la cámara 2810 mediante un cierre sellado 2825. El método puede incluir además iv) la introducción de un reactivo de extracción por el conducto de extracción 2840; v) la extracción de analitos del cabezal del hisopo 2830 pasando reactivo de extracción por el cabezal del hisopo 2835 y vi) la eliminación del analito extraído por el conducto de muestras 2845. El analito extraído puede ser direccionado a una cámara de detección para el análisis. En una forma de realización preferida, el eje es fracturado, aplicando una fuerza en el extremo expuesto del eje del hisopo 2830 en dirección perpendicular a la longitud de la cámara 2810 para romper el eje en un borde 2827 de la cámara 2810 y permitir la extracción de la parte del eje que se extiende fuera de la cámara. Preferiblemente, el cabezal del hisopo 2830 está asentado en el extremo opuesto de la cámara 2810 antes de fracturar el eje.

En una forma de realización especialmente preferida, el eje del hisopo 2830 está construido para tener un punto débil (mostrado como punto débil 2837), de modo que la aplicación de una fuerza provoque la ruptura del hisopo 2830 en el punto débil de manera reproducible. Preferiblemente, el eje del hisopo incluye un elemento para la focalización de la tensión/deformación (una muesca, marca o algo similar), por ejemplo, el punto débil se introduce haciendo que el hisopo sea más estrecho en el punto débil o «marcando» el eje (es decir, cortando o grabando una o varias muescas en el eje, en el punto débil). Preferiblemente la muesca forma un circuito alrededor del eje de manera que el eje pueda romperse en cualquier dirección. Esta muesca puede lograrse cortando una ranura en el eje (por ejemplo, con una herramienta o un láser) mientras se hace girar la varilla aplicadora en un torno. Más

- preferiblemente, el punto débil está ubicado de manera que cuando el eje esté insertado en la cámara 2810, esté lo suficientemente cerca del borde 2827, de modo que se pueda aplicar la fuerza suficiente para romper el eje, pero que esté lo suficientemente cerca del cabezal 2835, de modo que el cierre 2825 pueda ser sellado. Opcionalmente, el cartucho de ensayo incluye una ventanilla a través de la cual el usuario puede ver el cabezal del hisopo insertado en la varilla aplicadora para comprobar que está correctamente insertado en la cámara de muestras.
- 5 La cámara de muestras puede también incluir otras funciones pasivas y/o activas para promover una ruptura fácil y reproducible de un hisopo dentro de la cámara de muestras. Las funciones pasivas pueden incluir una o varias de las siguientes opciones, por ejemplo, la configuración geométrica/disposición de la cámara de muestras en sí (por ejemplo, curvatura o ángulos a lo largo de la longitud de la cámara de muestras), elementos que focalicen la fuerza (p. ej., protuberancias en las paredes internas de la cámara de muestras) y similares. Las funciones activas pueden incluir uno o varios mecanismos accionables colocados y configurados dentro de la cámara de muestras para fracturar el hisopo, por ejemplo, un dispositivo de «guillotina», similar a un cortapuros que puede ser controlado por un usuario que ejerce una fuerza sobre el dispositivo.
- 10 15 En la figura 29 se muestra la cámara de muestras 2910, una adaptación de la cámara de muestras 2810. La cámara de muestras 2910 tiene una constricción definida por protuberancias 2990 que proyectan hacia adentro desde las paredes de la cámara para formar elementos de focalización de fuerzas dentro de la cámara. Como se ilustra en la figura, la aplicación de una fuerza lateral al hisopo 2930 que está asentado en la cámara de muestras 2910 ocasiona que el eje del hisopo entre en contacto con una o varias protuberancias 2990. La fuerza lateral se focaliza, por tanto, en una ubicación en el hisopo, y promueve la ruptura del hisopo en esa ubicación. Preferiblemente, el hisopo y la cámara de muestras están diseñados y son seleccionados para que el hisopo tenga un punto débil (mostrado como el punto débil 2937) en la misma ubicación (preferiblemente, el hisopo está marcado en esa ubicación).
- 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 La figura 30 muestra el ejemplo de una cámara 3010, una adaptación especialmente preferida de la cámara de muestras 2810 que tiene una curva o ángulo 3015 a lo largo de su longitud, de modo que la cámara de muestras tiene una primera zona alargada (en un lado de la curva o ángulo) orientada en una dirección y una segunda zona alargada (al otro lado de la curva o ángulo) orientada en la segunda dirección, estando orientadas las dos zonas en un ángulo, la una respecto a la otra. Como se muestra en la figura 30, la inserción de un hisopo 3030 da lugar al contacto entre una ubicación en el eje del hisopo y un sitio en la superficie interna del ángulo o curva. Este contacto focaliza la fuerza en esa ubicación y promueve la ruptura del eje en esa ubicación (para formar el segmento del cabezal 3071 y el segmento del eje 3072). Preferiblemente, el ancho de la cámara de muestras está diseñado para encajar el cabezal del hisopo cómodamente pero no tan fuertemente que la inserción del hisopo requiera el uso excesivo de fuerza. Lo más preferiblemente, el hisopo y la cámara de muestras están diseñados y seleccionados para que el hisopo tenga un punto débil (mostrado como el punto débil 3037) en o cerca del sitio de contacto (preferiblemente, el hisopo está marcado en esa ubicación). Los solicitantes han encontrado que esta disposición permite la inserción y ruptura simultánea del hisopo en una sencilla operación. Ventajosamente, la ruptura es reproducible y ocurre sin ningún movimiento violento que pueda dar lugar a que la muestra se salga del cartucho. Los ángulos preferidos o grados de curvatura son 20-90 grados, preferiblemente 30-70 grados, incluso más preferiblemente entre 40 y 50 grados, lo más preferiblemente de 45 grados. Aunque las figuras 28, 29 y 30 ilustran formas de realización que emplean hisopos, las técnicas son aplicables a otros tipos de varilla aplicadora.
- La cámara de muestras está conectada a un conducto de muestras para la transferencia de líquidos desde la cámara de muestras a otros componentes de fluidos en el cartucho. La cámara de muestras también puede estar conectada a un puerto de ventilación y/o una cámara de reactivos (p. ej., a través de conductos de fluidos). En una configuración preferente para la acogida de muestras líquidas, la cámara de muestras está conectada a un conducto de muestras y a un puerto de ventilación. La figura 27 muestra una sección transversal de una forma de realización preferida. La cámara de muestras 2710 tiene un orificio para la introducción de muestra 2720 y está conectada a un conducto de muestras 2730 y a un puerto de ventilación 2740 (a través del conducto de ventilación 2750). El conducto de muestras 2730 está ventajosamente colocado para cruzar la cámara de muestras 2710 en o cerca de la parte inferior de la cámara (en relación a la orientación del cartucho durante la operación), así como para permitir una transferencia eficiente de una amplia fracción del volumen de muestra sin la introducción de burbujas. El conducto de ventilación 2750 está convenientemente colocado para cruzar la cámara de muestras 2710 por encima del conducto de muestras 2730 y a una altura que es superior a la altura del nivel de llenado esperado para evitar la posible contaminación del instrumento y/o escape del líquido de muestra. Preferiblemente, el conducto de ventilación 2750 dispone de suficiente volumen en el conducto de fluidos, de modo que una pequeña cantidad de líquido de la muestra, por ejemplo, como es el caso si la muestra es espumosa o tiene burbujas, pueda entrar en el conducto sin ser arrastrada hacia el puerto de ventilación 2740. En una forma de realización, tal como se ilustra en la fig. 9, puede colocarse un pocillo/colector 975 dentro del conducto de fluidos. En otra forma de realización, tal y como se ilustra en la fig. 20, puede ampliarse/prolongarse el conducto de fluidos, por ejemplo, mediante el uso de una configuración en serpentina 2030.
- La tapa 2760 puede utilizarse para sellar el orificio de introducción de muestras 2720 sin impedir el flujo de aire a través del conducto de ventilación 2750. En la figura 27, los compartimentos de fluidos y los conductos están

5 formados por cavidades (por ejemplo, canales) o perforaciones en el cuerpo del cartucho 2770 y la capa de cubierta 2780 que está sellada contra el cuerpo del cartucho 2770. La cámara de muestras 2710 tiene un saliente interno 2790. El conducto de ventilación 2750 incluye un agujero vertical desde la parte inferior del cuerpo del cartucho 2770 hacia la cara superior del saliente 2790. Esta construcción prevé un proceso de fabricación simplificado que es susceptible de moldeo por inyección o de mecanizado del cuerpo del cartucho; otras construcciones de los conductos de ventilación serán obvias para los trabajadores expertos en la materia.

10 Las cámaras de reactivo son cámaras que están adaptadas para contener reactivos líquidos que se utilizan en el transcurso de los ensayos que se llevan a cabo en el cartucho. Las consideraciones de diseño de la cámara de reactivos para formas de realización preferidas de un cartucho dependen, en parte, del ensayo específico que se realice con el cartucho. Por ejemplo, un cartucho puede tener uno, dos o más cámaras de reactivos, según el número de reactivos requeridos por el formato del ensayo. Los reactivos líquidos que se pueden mantener en una cámara de reactivos incluyen soluciones amortiguadoras, diluyentes, soluciones de ensayo que contienen reactivos de unión (por ejemplo, proteínas, receptores, ligandos, haptenos, anticuerpos, antígenos, ácidos nucleicos y similares), soluciones que contienen enzimas y/o sustratos enzimáticos, soluciones que contienen reactivos de control, EQL, soluciones amortiguadoras de lectura que contienen EQL, co-reactivos (por ejemplo, aminas terciarias como piperacina-N,N'-bis (ácido 2-etanosulfónico) y tripropilamina), soluciones de lavado, agentes antiespumantes, reactivos de extracción (por ejemplo, soluciones que contienen detergentes, ácidos, bases, ácido nítrico, nitratos, etc.) y similares. Un cartucho puede tener una, dos o más cámaras de reactivo, según el número de reactivos requeridos por el formato del ensayo. Las consideraciones de diseño de la cámara de reactivos para formas de realización preferidas de un cartucho dependen, en parte, del ensayo específico que se vaya a realizar con el cartucho. La cámara de muestras está conectada a un conducto de muestras para la transferencia de líquidos desde la cámara de muestras a otros componentes de fluidos en el cartucho. La cámara de reactivos, preferiblemente, también está conectada a un puerto de ventilación de reactivos (opcionalmente, a través de un conducto de ventilación de reactivos). La disposición de las conexiones del conducto a la cámara está sujeta a consideraciones de diseño similares a las descritas para la cámara de muestras, el conducto de muestras y el puerto de muestras; preferiblemente, el conducto de reactivos se cruza con la cámara en o cerca de la parte inferior y el respiradero de reactivos/conducto de ventilación se cruza con la cámara en o cerca de la parte superior (con respecto a la orientación del cartucho durante el uso). Opcionalmente, se coloca un elemento de filtro delante o en el conducto de reactivos, por ejemplo, si se espera que la solución del reactivo contenga partículas que puedan obstruir el mecanismo de fluidos del cartucho o afectar negativamente al rendimiento del ensayo.

35 En una forma de realización, un cartucho tiene uno o varios compartimentos de reactivos que están vacíos o que contienen sólo los reactivos desecados. Antes de llevar a cabo un ensayo, el usuario o lector de cartuchos dispensa reactivos líquidos a estas cámaras (p. ej., a través del puerto de ventilación de reactivos o a través de los orificios para la introducción de muestra similares al orificio de introducción de muestra descrito anteriormente) que, opcionalmente, reconstituyen cualquier reactivo desecado presente en las cámaras; los reactivos están, por lo tanto, preparados para su uso en el ensayo. Pueden utilizarse cierres sellables para impedir la fuga de los reactivos tras su incorporación.

40 40 Preferiblemente, cuando un ensayo requiere el uso de reactivos líquidos, todos o algunos de estos reactivos líquidos son almacenados en forma líquida en las cámaras de reactivos para reducir al mínimo el número y la complejidad de las operaciones que debe realizar un usuario o lector de cartuchos. En una forma de realización preferida, la(s) cámara(s) de reactivos pueden llenarse con el reactivo de ensayo requerido en el momento de fabricación del cartucho y ser posteriormente sellada(s). Cuando se utilizan para almacenar reactivos líquidos, las cámaras de reactivos deben estar diseñadas para evitar fugas y/o pérdidas por evaporación de los reactivos de las cámaras durante el almacenamiento. En una forma de realización especialmente preferida, se incorporan los reactivos de ensayo en los módulos de reactivo de ensayo que puedan agruparse en las cámaras de reactivo de ensayo del cartucho durante la fabricación. Al diseñar los módulos de ensayo para que tengan las propiedades requeridas tales como la resistencia a fugas y a pérdidas por evaporación, se ha simplificado considerablemente el diseño y la fabricación del resto del cartucho. En esa forma de realización preferida, se incorporaría, preferiblemente, un mecanismo de liberación de reactivo de ensayo en el lector de cartuchos para liberar el reactivo de ensayo del módulo de reactivos. El mecanismo de liberación de reactivo de ensayo está preferiblemente adaptado y configurado para activar el módulo de reactivos y liberar/recuperar su contenido.

55 55 El módulo de reactivos es un contenedor como una ampolla (por ejemplo, vidrio, plástico, o similares), una bolsa (por ejemplo, plástico, lámina de metal, plástico/láminas metálicas, caucho, o similares), un blíster, una jeringa, o similares, o cualquier otro recipiente que pueda llenarse con líquido, sellarse y colocarse en el cartucho para la posterior entrega de líquido. Los materiales preferidos son el vidrio, el plástico con buenas propiedades de barrera de vapor de agua (p. ej., los copolímeros de olefinas cílicas como los copolímeros de etileno y norborneno, náilon 6, polinaftalato de etileno, cloruro de polivinilideno y policlorotrifluoroetileno) y láminas de metal/láminas de plástico debido a su inercia química y su resistencia a las pérdidas por evaporación, otros materiales adecuados serán obvios para los profesionales expertos en la materia. Las ampollas, preferiblemente, constan de un material que puede hacerse añicos o romperse con un impacto, como es el caso del vidrio o de plástico duro. Las formas de realización que incorporan ampollas rompibles, preferiblemente, incluyen también filtros para garantizar que prácticamente ninguno de los fragmentos que puedan resultar en la ruptura de las ampollas tenga posibilidades de

- entrar en la red de fluidos y posiblemente obstruir o bloquear el flujo del líquido. La fig. 19 muestra una vista superior seccionada de un cartucho en el que se muestran los filtros 1515, 1516 en la parte inferior de las cámaras 1510 y 1511. Estos filtros pueden ser moldeados/mecanizados, grabados/etc. integralmente en las correspondientes cámaras. Alternativamente, como se ilustra en la fig. 20 que muestra una vista inferior de un cuerpo de cartucho, los 5 filtros 2020, 2021 pueden ser componentes independientes y ser incorporados en las correspondientes cámaras durante el proceso de montaje o de fabricación; p. ej. los insertos de filtro que se pueden insertar/encajar en un receptáculo, dentro de la cámara, que está organizado y configurado para acoger de forma participativa el inserto de filtro.
- 10 El mecanismo de liberación de reactivo de ensayo para liberar el contenido de una ampolla rompible puede ser un simple dispositivo mecánico que se acciona para ejercer una fuerza en la ampolla; por ejemplo, dar un fuerte golpe a la ampolla con lo que se produce su ruptura y la liberación de su contenido en la cámara de reactivos de ensayo. La fig. 21 muestra una forma de realización preferida de una cámara de reactivos que emplea las ampollas de reactivo de ensayo 2120, 2121. Preferiblemente, una capa de cubierta (no se muestra), lo más preferiblemente compuesta de un material flexible, está sellada en la parte superior del cuerpo del cartucho para que no haya fugas de líquido del cartucho después de que se hayan roto las ampollas (véase, por ejemplo, la capa de cubierta 1401 en la fig. 14). La fig. 21 también muestra el mecanismo de liberación de ampollas (no: de ensayo) 2110 (preferiblemente, un componente del lector de cartuchos) que puede ser accionado para que el elemento percutor 2115 golpee una ampolla, preferiblemente golpeando una capa de cubierta flexible que luego transfiere la fuerza del impacto a la ampolla (que, preferiblemente, permanece intacta, de manera que la liberación de los líquidos se limita a la cámara de reactivos). Se ha observado que, si se golpea la ampolla rápidamente con una adecuada fuerza impulsiva, se produce una ruptura más completa de la ampolla y por lo tanto se libera el reactivo de ensayo más eficazmente, mientras que una fuerza lentamente aplicada que va aumentando en magnitud hasta que finalmente la ampolla se fractura, deriva en una ruptura menos completa y una liberación de reactivo de ensayo menos eficaz. 15
- 20
- 25 Las ampollas pueden romperse en serie (una por una) o en paralelo (simultáneamente o de modo sustancialmente simultáneo). En una forma de realización, un cartucho de ensayo contiene dos ampollas con dos reactivos distintos (por ejemplo, una solución amortiguadora de extracción de muestra y una solución amortiguadora de lavado). Es posible configurar un lector de cartuchos para su uso con este cartucho para romper las ampollas en paralelo, liberando el contenido de cada ampolla en sus respectivas cámaras de reactivo. Alternativamente, es posible configurar el lector para romper las ampollas en serie. El segundo método tiene ventajas cuando se utilizan los reactivos en diferentes momentos del proceso de ensayo, permitiendo que cada uno de los reactivos se libere cuando sea necesario y reducir así el riesgo de que un reactivo pueda salirse de una cámara de reactivos antes de tiempo. 30
- 35 Una variedad de métodos diferentes están disponibles para accionar un elemento percutor para romper una ampolla, entre ellos el acoplamiento directo del percutor a un motor, un solenoide u otro elemento de accionamiento activo para golpear la ampolla con el percutor o, alternativamente, mediante la liberación de un percutor mantenido bajo una fuerza de resorte (en cuyo caso puede usarse un elemento de accionamiento activo para cargar un resorte). 40
- 45 Una forma de realización de un mecanismo de liberación de reactivo es el mecanismo de liberación de reactivo de ensayo 4200 que se muestra en la figura 42. El elemento percutor 4210 es un brazo de palanca alargado con una superficie de impacto sobresaliente 4212, que preferiblemente tiene una superficie de impacto puntiaguda (por ejemplo, la superficie de impacto puede ser triangular en una sección transversal). La superficie de impacto 4212 sube y baja en relación con un cartucho insertado por la rotación del elemento percutor 4210 alrededor del eje del percutor 4214. El elemento percutor 4210 también consta de una superficie de control 4216 que está montada sobre la leva 4220 que está fijada al eje del mando giratorio 4222, elevando y bajando así la superficie de impacto 4212. La superficie de control 4216 puede estar, sin que sea necesario, en un extremo del brazo de palanca alargado; opcionalmente, la superficie de control 4216 y el eje del percutor 4214 están en los extremos opuestos del brazo de palanca alargado. Se aplica una fuerza al elemento percutor 4210, empujándolo contra la leva y/o hacia el cartucho. 50
- 55 Esta fuerza puede ser suministrada por un resorte (p. ej., el elemento de resorte 4218 entre el elemento percutor 4210 y el bastidor del mecanismo de liberación de reactivo de ensayo 4230).
- 60 La leva 4220 tiene un diseño asimétrico que, con la rotación de la leva (por ejemplo, en respuesta a un motor que impulsa el eje de mando 4222), eleva suavemente el elemento percutor, pero durante una rotación continuada, suelta rápidamente el percutor dejándolo caer rápidamente (preferiblemente, sin que la leva lo impida) bajo la fuerza del resorte que golpea y rompe una ampolla en el cartucho. La magnitud del desplazamiento del percutor puede ser limitada y definida por un tope mecánico que puede ser proporcionado por la propia superficie de la leva o por medio de un tope mecánico independiente como una superficie de detención diferente, por ejemplo, una superficie del bastidor del mecanismo de liberación de reactivo de ensayo 4230, tal como se muestra en la figura. Hay una variedad de formas de leva adecuadas que están disponibles, y que pueden lograr este efecto. Una forma de leva adecuada tiene (como se ilustra con la leva 4220 en la figura 42) una sección transversal más o menos circular con excepción de una pestaña redondeada que sobresale del círculo. El borde delantero de la pestaña (suponiendo que la leva gira en sentido contrario a las agujas del reloj en la figura) posibilita el levantamiento gradual del elemento percutor (y está, preferiblemente, más o menos alineado con un diámetro del círculo). El borde trasero de la pestaña es tangencial al círculo, de modo que el percutor se suelta y cae sin que la leva lo impida. A medida que la leva 65

sigue girando, es posible que la superficie de control del elemento percutor alcance el borde delantero de la pestaña y que el elemento percutor vuelva a elevarse.

Es posible romper múltiples ampollas en serie o en paralelo mediante múltiples mecanismos de ruptura de ampollas como se ha descrito anteriormente. En una forma de realización alternativa, se puede utilizar un único motor para controlar múltiples elementos percutores mediante el acoplamiento del motor a varias levas. La figura 42 muestra un segundo elemento percutor 4250 (similar al elemento percutor 4210) que está controlado por una segunda leva 4252 en el eje de mando 4222 (la segunda leva no está oculta en la figura por un anillo espaciador opcional 4224 entre las levas; para fines ilustrativos, se muestra la ubicación de la rotación relativa de la pestaña en la segunda leva 4252 como una línea punteada; el anillo espaciador puede usarse para definir la distancia entre los elementos percutores, que puede corresponder a la distancia entre las ampollas). Como se muestra en la figura, las dos levas están en diferentes posiciones de rotación relativa, de manera que pueden emplear sus respectivos elementos percutores en diferentes momentos durante la rotación del eje de mando 4222. La figura muestra el primer elemento percutor en su posición más alta. Un ligero giro del eje de mando en sentido contrario al de las agujas del reloj (p. ej., utilizando un motor que impulsa el eje de mando) lanzará el primer elemento percutor y se romperá solamente una ampolla. Cuando sea el momento de liberar el reactivo de una segunda ampolla, se activará el motor y el eje de mando será accionado en sentido contrario a las agujas del reloj hasta que la segunda pestaña de la leva establezca contacto con el segundo elemento percutor, levantándolo y soltándolo para romper una segunda ampolla. Colocando las dos levas en las mismas posiciones de rotación relativa, puede utilizarse el mismo diseño básico para separar dos ampollas en paralelo. Será obvio que el mismo diseño básico podrá utilizarse para romper más de dos ampollas en serie y/o en paralelo, introduciendo elementos percutores y levas adicionales.

La figura 36 muestra una forma de realización de un cartucho que tiene el cuerpo del cartucho con dos cámaras de reactivos 3610 y 3620 definidas en el mismo, para almacenar ampollas de reactivo. Las cámaras de reactivo son pocillos situados en el cuerpo del cartucho con aberturas exteriores que tienen una forma más o menos rectangular y tienen longitudes y anchos mayores que la longitud y la anchura, respectivamente, de las ampollas más o menos cilíndricas para cuyo almacenamiento están diseñadas (véase, por ejemplo, la ampolla 2121 en la fig. 21, que es una ampolla cilíndrica con extremos redondeados). Como se ha descrito anteriormente, una capa de cubierta (no se muestra) puede ser sellada hacia las aberturas para impedir la fuga de reactivos de ensayo después de que una ampolla haya sido abierta dentro de una cámara de reactivos. Las paredes laterales 3622 de la cámara de reactivos 3620 (es decir, las paredes a lo largo de la longitud de las cámaras) están inclinadas, de tal forma que la anchura de la cámara, en la parte inferior, sea inferior a la anchura en la parte superior. El ancho en el fondo del pocillo se ha elegido, basándose en el ancho de las ampollas de reactivo, de manera que las ampollas están apoyadas en las paredes inclinadas de la cámara.

Opcionalmente, las ampollas se apoyan en un receptáculo de ampollas adaptado para acoger una ampolla cilíndrica. El receptáculo de ampollas, es decir, una cámara de reactivos, incluye paredes laterales y una gama de escuadras de soporte que sobresalen de las paredes laterales y las escuadras de soporte están configuradas para ofrecer un soporte de varios puntos para una ampolla cilíndrica. La cámara de reactivos puede incluir tres, cuatro o más escuadras de soporte (p. ej., las escuadras 3624), que sobresalen de las paredes laterales, y al menos una escuadra está presente en cada lado de la cámara. Las escuadras están, preferiblemente, inclinadas hacia adentro, de manera que el ancho de la cámara de reactivos se vuelve más estrecho a medida que aumenta la profundidad del pocillo (en cuyo caso, no será necesario que las paredes laterales estén inclinadas). Las escuadras proporcionan un soporte de varios puntos para las ampollas (por ejemplo, un diseño de soporte de tres o cuatro puntos) que permite una tolerancia considerable en la anchura y longitud de las ampollas. La superficie de los soportes que está en contacto y apoya la ampolla puede presentar declive (como se muestra) o ser plana. El ancho de las escuadras (es decir, la dimensión a lo largo de la longitud de la cámara) puede elegirse para que sea estrecho (por ejemplo, < 5 mm o menos de 2 mm) para concentrar sus fuerzas en zonas relativamente pequeñas de la ampolla durante la ruptura de la ampolla.

Las cámaras de reactivos incluyen un puerto de salida (o de drenaje), como por ejemplo, el puerto de salida 3626, para transferir el reactivo a la cámara de reactivos. Como se muestra en la figura, la salida puede incluir un elemento de filtro para evitar que entren fragmentos de vidrio en el sistema de fluidos del cartucho. Como también se indica, la parte inferior de la cámara puede presentarse en pendiente, de modo que la salida esté en el punto más bajo de la cámara.

En una forma de realización alternativa, puede utilizarse un contenedor perforable como una funda o un blíster. Preferiblemente, el contenedor perforable tiene una pared perforable, hecha de una película de plástico, una lámina de metal, o siendo lo más preferible, una lámina de metal/película de plástico laminado. En esa forma de realización, el mecanismo de liberación de reactivo de ensayo podría emplear un sistema de perforación. La figura 22 muestra una vista detallada de una forma de realización preferida de una cámara de reactivos para albergar un contenedor perforable. La cámara de reactivos 2210 tiene la punta punzante 2212 ubicada en la parte inferior de la cámara. La cámara 2210 está conectada al conducto de reactivos 2216 y, opcionalmente, a un conducto de ventilación (no se muestra). El módulo de reactivos 2220 incluye el cuerpo del módulo 2230, preferiblemente fabricado de plástico moldeado por inyección, que define las paredes de un compartimento de líquido, y está dotado de una primera apertura 2232 y una segunda apertura 2234. El líquido está cerrado en el compartimento estanco, gracias a la

5 primera cubierta de apertura 2242 y la segunda cubierta de apertura 2244, y las cubiertas están preferiblemente hechas de láminas de plástico y metal (siendo lo más preferible una película de Mylar revestida de aluminio). Asimismo, el módulo 2220 tiene, preferiblemente, una lengüeta 2250 que encaja en la ranura de la cámara 2214 para alinear correctamente el módulo 2220 en la cámara 2210 y mantener el módulo en una posición elevada por encima del elemento punzante 2212. Asimismo, la cámara 2210 tiene, preferiblemente, una capa de cubierta que evita que se produzcan fugas de reactivo de la cámara después de la ruptura del módulo 2220. Tras la aplicación de una fuerza descendente de umbral al módulo 2220, preferiblemente mediante una capa de cubierta de cámara flexible, el módulo 2220 es empujado contra la punta 2212, perforando la tapa de la primera apertura 2242 y liberando el reactivo dentro de la cámara. El módulo 2220 incluye además, preferiblemente, una segunda punta 10 punzante 2236 que está fijada a las paredes del módulo mediante un voladizo (el segundo elemento punzante y el voladizo están preferiblemente integrados en el cuerpo del módulo; este componente puede fabricarse fácilmente, por ejemplo, mediante moldeo por inyección). Cuando la punta punzante 2212 traspasa la primera tapa de apertura 2242 en un módulo con un segundo elemento de punta punzante 2236, la punta punzante 2212 empuja la segunda punta punzante 2236 hasta que penetra en la segunda tapa de apertura 2234 haciendo una segunda apertura en el módulo 2220 y facilitando la extracción del líquido de la bolsa; es decir, vaciando la bolsa en sí.

15 En otra forma de realización alternativa, se almacenan los reactivos líquidos en una jeringa que consta de la cámara de la jeringa y un émbolo. La cámara puede ser un componente integral del cartucho, un módulo que se inserta en el cartucho o un componente independiente que está conectado (por ejemplo, a través de una conexión Luer-lock) al cartucho antes de su uso. El accionamiento del émbolo puede emplearse para liberar el contenido de la jeringa en una cámara de reactivos o, alternativamente, para transferir el contenido directamente a otros componentes de fluidos del cartucho.

20 Una consideración importante para sistemas de ensayo basados en cartuchos está relacionada con el almacenamiento a largo plazo del cartucho antes de usarlo; es decir, la «vida útil» del cartucho. Algunos reactivos de ensayo (especialmente reactivos los biológicos y/o reactivos de unión, tales como enzimas, sustratos enzimáticos, anticuerpos, proteínas, receptores, ligandos, haptenos, antígenos, ácidos nucleicos y similares), cuando se disuelven en un medio líquido requieren un manejo y almacenamiento especial, a fin de mejorar su tiempo de vida útil. En ciertos casos, incluso si los reactivos del ensayo disueltos en un medio líquido son manipulados y 25 almacenados en estricto cumplimiento de los requisitos especiales de manipulación y almacenamiento, su vida útil es imposiblemente corta. Además, la necesidad de respetar los requisitos especiales de manipulación y almacenamiento se añade a la complejidad y el coste de los sistemas basados en cartuchos que emplean esos reactivos. Los requisitos especiales de manipulación y almacenamiento pueden reducirse considerablemente, 30 incluso eliminarse, y la complejidad y el coste del sistema pueden minimizarse mediante el uso de formas de reactivos de ensayos más estables, secas o deshidratadas. El uso de reactivos secos también puede simplificar las operaciones de mezcla y reducir el volumen y el peso de un cartucho. Los reactivos que pueden ser incluidos en forma seca incluyen reactivos biológicos, reactivos de unión, amortiguadores de pH, detergentes, agentes antiespumantes, reactivos de extracción, agentes de bloqueo, y similares. Los reactivos secos pueden incluir también excipientes utilizados para estabilizar los reactivos secos como los azúcares (por ejemplo, la sacarosa o la 35 trehalosa). Para ensayos que puedan emplear muestras ácidas o básicas (por ejemplo, muestras que son inherentemente ácidas o básicas y/o muestras que se extraen o se tratan de otra manera con un reactivo ácido/básico), un reactivo seco puede incluir un reactivo de neutralización (por ejemplo, un ácido, una base de una solución amortiguadora de pH). En formas de realización especialmente preferidas, que implican la extracción de muestras con ácido nítrico, la muestra extraída pasa a través de un reactivo seco compuesto de una base o, 40 preferiblemente, la forma de base de un agente amortiguador (por ejemplo, Tris, Hepes, fosfato, PIPES, etc.). Se incluye una cantidad suficiente de la base o del agente amortiguador para llevar el pH de la muestra extraída a un valor que sea compatible con la consiguiente reacción de ensayo realizada sobre la muestra (por ejemplo, reacciones de enlace con reactivos de unión).

45 Los reactivos secos pueden emplearse de muchas maneras en un sistema basado en cartucho. Como se ha descrito anteriormente, los reactivos secos pueden almacenarse en una cámara de reactivos que se llena antes de su uso por un usuario o por un aparato lector de cartuchos. Asimismo, los reactivos secos pueden almacenarse en otros componentes de fluidos, por ejemplo, dentro de los conductos de fluidos o las cámaras, más preferiblemente dentro de un conducto de fluidos conectado a la cámara de muestras y a la cámara de detección. La introducción o el paso de líquido (p. ej., una muestra líquida o un reactivo líquido) por el conducto o la cámara da lugar a la disolución del reactivo seco. Los reactivos secos pueden ser insertados durante la fabricación de un cartucho depositando los reactivos secos en el componente de fluidos apropiado, por ejemplo, depositando el reactivo en forma de polvo o comprimido o incorporando el reactivo seco en una tinta serigrafiada. Alternativamente, es posible insertar los reactivos en la solución y secarlos a continuación para eliminar el disolvente. En una forma de 50 realización preferida, los reactivos secos pueden ser formados sobre un substrato mediante la deposición de soluciones que contienen los reactivos en una o en varias ubicaciones predefinidas, y posteriormente se secan los reactivos para formar una pastilla de un reactivo seco bajo condiciones en las que la adición de una muestra líquida o de un disolvente apropiado, hace que el reactivo seco se disuelva en solución. El término «pastilla» se emplea aquí para referirse de manera general, a una cantidad de un reactivo seco, pero soluble, sobre un sustrato y no conlleva ninguna forma tridimensional específica. La ubicación de una pastilla sobre un sustrato se denomina en este documento como «zona de pastillas». El sustrato es preferiblemente un componente del cartucho, por ejemplo,

el cuerpo del cartucho, la cámara, la capa de cubierta, las matrices de electrodos, etc. Las ubicaciones adecuadas para la zona de pastillas incluyen la cámara de muestras, la cámara de reactivos, los conductos de muestras, y los conductos de reactivo para que los reactivos y las muestras líquidas recojan el reactivo seco antes de su introducción en las cámaras de detección. Alternativamente, las pastillas de reactivo pueden estar ubicadas dentro

- 5 de las propias cámaras de detección. En la forma de realización preferida, representada en la fig. 13a, las pastillas de reactivo seco se forman sobre la capa de cubierta 1322 en dos zonas de pastillas predefinidas. En otra forma de realización preferida, una cámara de reactivos alberga un reactivo líquido en una ampolla y una pastilla de un reactivo seco, de modo que el reactivo seco es reconstituido tras ruptura de la ampolla. Este mecanismo es útil para 10 la preparación de un reactivo que contenga un componente reactivo. En un ejemplo, la ampolla contiene un ácido, como el ácido acético y el reactivo seco es una sal de nitrato, de modo que la ruptura de la ampolla da lugar a la 15 preparación de ácido nítrico.

Una zona de pastillas, en la que se depositan los reactivos desecados puede estar impuesta por una barrera que confina el volumen de una solución depositada (y, por lo tanto, el reactivo desecado remanente después de dejar 20 que la solución se seque) a una zona específica de un sustrato. Según una forma de realización preferida, un cartucho consta de una zona de pastillas que está delimitada por la superficie de una barrera, la superficie de la barrera sube o baja (preferiblemente sube) y/o tiene diferente hidrofobicidad (preferiblemente, más hidrofóbica) que la zona de pastillas. Preferiblemente, la superficie de la barrera es mayor, en relación a la superficie del sustrato dentro de la zona de pastillas, en 0,5-200 micrómetros, o más preferiblemente en 2-30 micrómetros, o lo más 25 preferiblemente en más de 8 a 12 micrómetros. Incluso más preferiblemente, la superficie de la barrera tiene un borde claramente definido (es decir, proporciona un muro límitrofe empinado y/o un ángulo agudo en la interfase entre la zona de pastillas y la barrera). Preferiblemente, la superficie de la zona de pastillas tiene un ángulo de contacto de agua 10 grados menos a la superficie de la barrera, preferiblemente 15 grados menos, más preferiblemente 20 grados menos, más preferiblemente 30 grados menos, incluso más preferiblemente 40 grados menos, y lo más preferiblemente 50 grados menos.

En una forma de realización preferida, la zona de pastillas está definida por una depresión cortada o moldeada en el sustrato. En otra forma de realización, la superficie de la barrera alrededor de una zona de pastillas está definida por un material de barrera aplicado sobre el sustrato. En un ejemplo, la zona de pastillas está definida por un corte en 30 una película o junta aplicada al sustrato, preferiblemente un recorte en una película de una cinta adhesiva. En otra forma de realización preferida la barrera puede ser físicamente definida por la aplicación de un revestimiento en una forma que define la barrera de la zona de pastillas mediante, por ejemplo, técnicas establecidas para formar revestimientos estructurados como la fotolitografía, la deposición estructurada, la serigrafía, etc. En un ejemplo, un recubrimiento dieléctrico estructurado puede ser serigrafiado sobre la superficie de un sustrato, y el patrón incluye 35 aberturas, cuya barrera define la zona de pastillas. El reactivo puede dispensarse sobre el sustrato dentro de la barrera de la zona de pastillas y posteriormente secarse para formar la pastilla de reactivo desecada.

Las cámaras de residuos están adaptadas para albergar el exceso de líquido o desechos líquidos. En ciertas formas 40 de realización, la cámara de detección también puede actuar como cámara de residuos. En ciertas formas de realización, sin embargo, es conveniente tener una cámara de residuos independiente, por ejemplo, cuando se lleva a cabo formatos de ensayo que implican pasar las muestras por una cámara de detección que tenga un volumen mayor que el volumen de la cámara de detección o cuando se lleva a cabo formatos de ensayo que implican etapas de lavado para la eliminación de la muestra de la cámara de detección. El dimensionado de las cámaras de residuos se realiza preferiblemente de acuerdo a los volúmenes previstos de la muestra y de los reactivos líquidos que se van a utilizar en el ensayo. Otro factor relacionado con el dimensionado de las cámaras de residuos, que preferiblemente 45 se toma en cuenta, se refiere al potencial de residuos líquidos que entran en la cámara de residuos y forman espuma o burbujas. En esos casos, en los que se prevé la formación de espuma o de burbujas, es posible incrementar el volumen de la cámara de residuos lo suficiente como para evitar cualquier problema que pueda surgir de esa formación de espuma o burbujas.

50 Las cámaras de residuos están unidas a un conducto de cámara de residuos y, preferiblemente, a un puerto de ventilación (p. ej., a través de un conducto de ventilación). La cámara de residuos está configurada para permitir que los residuos líquidos sean entregados a la cámara de residuos a través del conducto de la cámara de residuos y, preferiblemente, para que el aire incluido en el flujo de residuos salga a través de un puerto de ventilación de la 55 cámara de residuos. Opcionalmente, las cámaras de residuos contienen un material que absorbe agua, como una esponja, que retiene los residuos líquidos y evita las fugas de los residuos líquidos durante la eliminación de un cartucho. Un factor que se considera preferiblemente al diseñar la configuración y disposición de las cámaras de residuos se refiere a eliminar o reducir de forma significativa la posibilidad de que el líquido de la cámara de residuos pueda retroceder («reflujo») dentro de la red de fluidos del cartucho. En formas de realización especialmente 60 preferidas, como se ilustra en la fig. 10, los conductos de la cámara de residuos están dispuestos/encaminados de modo que los líquidos están conectados a las cámaras de residuos en los puntos 1040, 1041 que están por encima de los niveles de llenado/líneas previstos (es decir, el nivel de llenado/línea está definido por el volumen de los residuos líquidos que residen dentro de la cámara de residuos a la conclusión del ensayo). Esta configuración preferida reduce sustancialmente o elimina la posibilidad de que el líquido de la cámara de residuos pueda 65 retroceder («reflujo») a la red de fluidos del cartucho.

La cuestión del reflujo también puede surgir en el contexto de la formación de burbujas/espuma de los residuos líquidos. El puerto de ventilación está preferiblemente unido a través de un conducto con un volumen suficientemente grande para permitir que una pequeña cantidad de líquido entre en el conducto (por ejemplo, debido a la presencia de espuma en la cámara de residuos) sin que este líquido alcance el puerto de ventilación (como se describió anteriormente para la cámara de muestras). Además, se pueden incluir tapones para la prevención de aerosoles o membranas selectivas de gases (es decir, materiales que permiten de forma selectiva el paso de gas, sin embargo, impiden el paso de líquidos) en los conductos de ventilación de la cámara de residuos o puertos de ventilación para impedir la liberación de líquido a través de estos conductos. Los tapones para la prevención de aerosoles se utilizan habitualmente en las puntas de las pipetas para evitar la contaminación de los pipeteadores; incluyen materiales que permiten el paso del aire cuando está seco, pero se hinchan y sellan el paso cuando entran en contacto con líquidos (por ejemplo, filtros de materiales impregnados o recubiertos con goma de celulosa).

En formas de realización especialmente preferidas puede incluirse una medida adicional para eliminar o reducir de forma significativa la formación de espuma/burbujas de los desechos líquidos cuando se introducen en la cámara de residuos. Esas medidas adicionales contra la formación de espuma/burbujas pueden incluir la disposición/encaminamiento del conducto de la cámara de residuos de manera que entre en la cámara de residuos en una posición que se encuentra por encima de la línea de relleno y que cruce una pared vertical de la cámara de residuos, tal como se ilustra para los segmentos del conducto 910 y 911 que entran en las cámaras de residuos 930 y 931 en la forma de realización que se representa en las figuras 9 y 10. Esa configuración permite que el residuo líquido entre en la cámara de residuos de manera que permita que el líquido discorra a lo largo de una pared vertical de la cámara de residuos. Ventajosamente, esto reduce de forma significativa o elimina la formación de espuma/burbujas del residuo líquido cuando se dirige hacia la cámara de residuos.

Otra medida contra la formación de espuma/burbujas que puede emplearse en ciertas formas de realización preferidas incluyen una red vertical, o pared parcial, que se puede incluir en la parte superior de la cámara de residuos. Una forma de realización especialmente conveniente para la incorporación de esa medida contra la formación de espuma/burbujas es el diseño del cuerpo de cartucho en dos piezas representado en la fig. 16. La red/pared contra la formación de espuma se introduce preferiblemente en las partes superiores de las cámaras de residuos 1610, 1611 ubicadas en el componente superior del cartucho 1500. Preferiblemente la red antiespumante se coloca entre el respiradero de la cámara de residuos y la entrada a la cámara de residuos. La altura de la red antiespumante se extiende preferiblemente por toda la profundidad de la parte superior de la cámara de residuos, pero puede ser inferior a la profundidad total. Alternativamente, la red antiespumante puede extenderse más allá de la profundidad de la parte superior de la cámara de residuos de manera que sobresale hacia la parte inferior de la cámara de residuos. Preferiblemente, se escoge la altura de la red antiespumante para lograr un efecto antiespumante óptimo, permitiendo el flujo de líquido debajo de la red/pared, pero bloqueando el flujo de burbujas por encima de la superficie del líquido en la cámara de residuos.

Otra medida contra la formación de espuma/burbujas consiste en incluir un agente antiespumante en la cámara de residuos o en otro conducto o cámara del cartucho de forma que el líquido que entra a la cámara de residuos tenga menos propensión a formar espuma y/o burbujas.

Las cámaras de detección están adaptadas para llevar a cabo una medición física de la muestra. La cámara de detección está conectada a un conducto de entrada. Preferiblemente, la cámara de detección también está conectada a un conducto de salida y está organizada como una celda de flujo. Si la medición requiere iluminación o la observación óptica de la muestra (por ejemplo, en las mediciones de absorbancia de luz, fotoluminiscencia, reflectancia, quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia, dispersión de la luz y similares), la cámara de detección debe tener al menos una pared transparente organizada de manera que permita la iluminación y/u observación. Cuando se emplea en un ensayo de unión en fase sólida, la cámara de detección preferiblemente consta de una superficie (preferiblemente, una pared de la cámara) que tiene uno o varios reactivos de unión (por ejemplo, anticuerpos, proteínas, receptores, ligandos, haptenos, ácidos nucleicos, etc.) ahí inmovilizados (preferiblemente, una matriz de reactivos de unión inmovilizados, más preferiblemente una matriz de anticuerpos y/o ácidos nucleicos inmovilizados). En una forma de realización especialmente preferida, la cámara de detección es una cámara de detección de electroquimioluminiscencia como se ha descrito anteriormente siendo lo más preferible que tenga uno o varios reactivos de unión inmovilizados en uno o varios electrodos. En una forma de realización preferida, el cartucho consta de un electrodo de trabajo con una matriz de reactivos de unión inmovilizados en el mismo. En otra forma de realización preferida, el cartucho consta de una matriz de electrodos de trabajo controlable de forma independiente en la que cada uno de los electrodos lleva un reactivo de unión inmovilizado. Preferiblemente, en cartuchos que emplean matrices de reactivos de unión, al menos dos elementos de la matriz incluyen reactivos de unión que difieren en lo que respecta a la especificidad de los analitos de interés. Anteriormente se han descrito en detalle cámaras de detección adecuadas, matrices de electrodos y matrices de reactivos de unión inmovilizados para el uso en sistemas de cartuchos basados en EQL que incluyen las formas de realización que se muestran en las figuras 1-4.

La cámara de detección está, preferiblemente, organizada en un diseño de celda de flujo alargada con entradas y salidas en o cerca de los extremos opuestos de la dimensión alargada. Dependiendo de la aplicación, el método de fabricación, el tamaño de la muestra, etc., las dimensiones de la celda de flujo pueden variar desde nanómetros

hasta decenas de centímetros y el volumen desde picolitros hasta mililitros. Algunas formas de realización preferidas tienen anchuras que pueden oscilar entre 0,05-20 mm, más preferiblemente, entre 1-5 mm y alturas (preferiblemente, inferiores o iguales a la anchura como para aumentar, para un volumen dado, la superficie de la parte inferior de la cámara de detección, especialmente cuando se utiliza esta superficie para inmovilizar los reactivos de unión) que varían entre 0,01 y 20 mm, más preferiblemente entre 0,05 y 0,2 mm. Preferiblemente, la altura es inferior o igual que la anchura. Preferiblemente, la cámara de detección está diseñada para acomodar volúmenes de muestras entre 0,1 y 1000 μ l, preferiblemente, entre 1 y 200 μ l, más preferiblemente, entre 2 y 50 μ l, lo más preferiblemente, entre 5 y 25 μ l. En formas de realización que están limitadas por el volumen de la muestra (por ejemplo, cartuchos para la medición de sangre de punciones capilares del dedo), los volúmenes especialmente preferidos de la cámara de detección son inferiores a 10 μ l, más preferiblemente 0,5-10 μ l, incluso más preferiblemente 2-6 μ l. La celda de flujo preferiblemente tiene una anchura igual o superior a la altura.

Un cartucho puede constar de una o varias cámaras de detección. Los cartuchos que incluyen varias cámaras de detección pueden incluir sistemas de fluidos independientes para cada cámara de detección (por ejemplo, cámaras de varias muestras y/o cámaras de reactivos y conductos de fluidos asociados), de modo que pueden llevarse a cabo múltiples ensayos sobre muestras en paralelo. En ciertas formas de realización preferidas, están varias cámaras de detección unidas a una sola cámara de muestras y pueden compartir el uso de otros componentes de fluidos como las cámaras de reactivo, cámaras de residuos y similares. En esas formas de realización, se pueden utilizar las dos cámaras de detección para llevar a cabo diferentes conjuntos de ensayos, aumentando así el número de mediciones que puedan realizarse en una muestra con respecto a un cartucho con una cámara de detección. Ventajosamente, el uso de varias cámaras de detección permite llevar a cabo en un solo cartucho múltiples mediciones incompatibles, es decir, mediciones que no se pueden realizar en un solo volumen de reacción o beneficiarse de ser llevadas a cabo en distintos volúmenes de reacción, por ejemplo, mediciones que tienen diferentes requisitos para el pH o la composición de ensayo o que interfieran de otro modo negativamente unos con otros.

En una forma de realización alternativa, que emplea una gama de cámaras de detección, se utilizan una o varias de una gama de cámaras de detección como cámara de control/calibración para la medición de muestras de control de ensayo/calibración de ensayo. En una de esas formas de realización, están configuradas una primera y una segunda cámara de detección para llevar a cabo un grupo de uno o varios ensayos para uno o varios analitos. Una cámara de detección (la cámara de prueba) se utiliza para analizar una muestra. La otra cámara de detección (la cámara de control) se utiliza para analizar una muestra enriquecida que lleva una cantidad adicional predeterminada de uno o varios de los analitos de interés (esta cantidad adicional predeterminada, preferiblemente, se proporciona pasando la muestra por una zona de pastillas de reactivo que contiene las cantidades adicionales). El cambio de señal entre las dos cámaras permite el cálculo de la capacidad de respuesta de la señal a cambios en el analito y puede utilizarse para calibrar el sistema y/o para determinar si el cartucho está funcionando correctamente. En otra forma de realización que emplea una cámara de control, la cámara de control no se utiliza para analizar la muestra o un derivado de la misma, sino que se utiliza para medir el analito en una matriz de control o matriz calibradora independiente. La señal de la cámara de control puede utilizarse para determinar las señales de fondo (utilizando una matriz sin analito), para calibrar el instrumento (usando una matriz calibradora con una determinada cantidad de analito para determinar los parámetros de calibración) o para determinar si el cartucho está funcionando correctamente (mediante una matriz de control con una determinada cantidad de analito y para determinar si la señal cae dentro de un determinado rango aceptable).

El mecanismo de fluidos del cartucho puede incluir colectores de burbujas. El colector de burbujas es una cámara o conducto adaptado para eliminar las burbujas de los flujos de líquidos. Preferiblemente, hay un colector de burbujas entre la muestra y las cámaras de detección para que las burbujas en la muestra puedan ser eliminadas antes de la introducción de la muestra en la cámara de detección. La figura 31 muestra una sección transversal de una forma de realización ejemplar y muestra la cámara atrapaburbujas 3110 conectada al conducto de entrada 3140 y al conducto de salida 3145 (los conductos de entrada y salida, están preferiblemente ubicados cerca de la parte inferior de la cámara 3110) y el puerto de ventilación 3150. El líquido se introduce en la cámara 3110 a través de la entrada 3140. La cámara 3110 es, preferiblemente, lo suficientemente amplia para que las burbujas en un líquido que entran a la cámara puedan subir a la parte superior de la cámara y ser expulsadas a través del orificio de ventilación 3150. El líquido exento de burbujas se expulsa a través de la salida 3145. Opcionalmente, se omite el conducto de salida de 3145; en este caso se deja que entre el líquido a través del conducto de entrada 3140, las burbujas se expulsan a través del orificio de ventilación 3150 y el líquido se expulsa de regreso, a través del conducto de entrada 3140. Opcionalmente, se coloca una membrana permeable al aire, pero impermeable al agua (por ejemplo, una membrana de material de Gore-tex) entre la entrada 3140 y el puerto de ventilación 3150. Cuando un líquido pasa a través del conducto que contiene burbujas o está presente en un flujo que está segmentado por acumulaciones de gas, el gas/burbujas pasará a través de la membrana y saldrá a través de puerto de ventilación 3150 (preferiblemente, el proceso es asistido aplicando succión en el puerto de ventilación 3150) para garantizar que el líquido no sea expulsado a través del puerto de ventilación 3150 (la membrana opcional se muestra como membrana 3190).

Los conductos de fluidos pueden ubicarse en cualquier posición dentro del cartucho y estar orientados en cualquier ángulo. Ventajosamente, los canales de fluidos se encuentran, principalmente, en redes planas, preferiblemente ubicadas próximas a las superficies externas (por ejemplo, las superficies superiores 901, 902 o inferiores 903 del

cartucho que se muestra en las figs. 11a-c) para permitir un diseño de cartucho de varias capas que utiliza, por ejemplo, componentes del cuerpo del cartucho mecanizados, troquelados, cortados por láser y/o moldeados. Las geometrías preferidas del conducto incluyen conductos cuyos cortes transversales son circulares, ovalados, cuadrados o rectangulares. La anchura es, preferiblemente, similar a la altura, a fin de minimizar el área de la

5 superficie de una determinada zona del corte transversal. La anchura y la altura pueden variar ampliamente desde escalas de nm a cm, en función de la aplicación, el volumen de muestra y el diseño del cartucho. Los rangos preferidos para la anchura y la altura son de 0,05 a 10 mm, preferiblemente, de 0,5 a 3 mm, más preferiblemente de 1 a 2 mm. Los cartuchos adaptados a muestras de bajo volumen como muestras de sangre de punciones capilares del dedo pueden tener conductos pequeños, preferiblemente con una relación altura/anchura < 1 mm, preferiblemente entre 0,4 y 1,0 mm.

Los canales de fluidos preferiblemente utilizan «perfles adaptadores en Z» que dirigen la ruta del flujo de líquido entre niveles. Un conducto con un perfil adaptador en Z puede constar de un primer, segundo y tercer segmento de conducto organizados en una secuencia, en la que el primer y el tercer segmento del conducto están ubicados en

15 diferentes redes de fluidos planas, y el segundo segmento del conducto conecta las dos redes de fluidos y está colocado en un ángulo con respecto a los otros dos segmentos. A modo de ejemplo, los «perfles adaptadores en Z» (indicados en la fig. 9 como rupturas capilares) encaminan el flujo/ruta del líquido, en el cartucho que se muestra en las figs. 11a-c, desde los conductos de fluidos cercanos a la superficie superior 901, 902 hasta los conductos de fluidos cercanos a la superficie inferior 903 y viceversa. Los perfles adaptadores en Z son ventajosos, ya que

20 proporcionan rupturas capilares (como se describe a continuación) y posibilitan redes de fluidos más complejas que las que serían posibles si los conductos de fluidos estuvieran confinados a un solo plano. El uso/colocación selectiva de rupturas capilares, preferiblemente perfles adaptadores en Z, pueden utilizarse para controlar el flujo pasivo de líquidos y evitar la mezcla de flujos de líquidos. Algunas formas de realización preferidas emplean «perfles adaptadores en Z dobles», es decir, conductos que constan de un primer perfil adaptador en Z que dirige el flujo de

25 líquido desde una primera red plana a una segunda red plana, un segundo perfil adaptador en Z que redirige el flujo de líquido de vuelta a la primera red plana, y de un segmento de conexión en la segunda red plana que conecta los dos perfles adaptadores en Z. Ese doble perfil adaptador en Z puede incluir el primer, segundo, tercer, cuarto y quinto segmento del conducto dispuestos en serie; el primer y el quinto segmento están ubicados en una primera red de fluidos plana, el tercer segmento está ubicado en una segunda red de fluidos plana y el segundo y cuarto segmento están ubicados para dirigir el flujo entre las dos redes planas.

30 La red de fluidos puede estar formada dentro del cartucho de varias maneras diferentes, que dependen, en parte, de los materiales escogidos para el cartucho. Puede emplearse cualquier método de fabricación conocido, adecuado para el material del cuerpo del cartucho, incluyendo, pero no estando limitado a, la estereolitografía, grabado

35 químico/láser, moldeado integral, mecanizado, laminados, etc. Esos métodos de fabricación pueden utilizarse solos o en combinación. En ciertas formas de realización, el cartucho consta de un cuerpo de cartucho y una o varias capas de cubierta acopladas a las superficies del cuerpo del cartucho para definir una o varias redes de fluidos (preferiblemente, redes de fluidos planas), análogamente, los perfles adaptadores en Z y/o puertos pueden ser

40 moldeados en forma selectiva, o mecanizados fuera del cuerpo del cartucho en ubicaciones predeterminadas para formar las conexiones de fluidos entre los canales de las superficies superiores e inferiores.

Una forma de realización preferida del cartucho puede fabricarse mediante un proceso de «laminado» conforme al cual las superficies funcionales del cuerpo del cartucho están selladas con capas de cubierta para formar la red de fluidos. Por ejemplo, las cavidades (por ejemplo, canales, ranuras, pocios, etc.) en una o varias superficies del

45 cuerpo del cartucho ofrecen lo que aquí denominamos «superficies funcionales». Con el sellado/acoplamiento de las superficies funcionales para formar capas de cubierta se forma una red de fluidos compuesta por componentes de fluidos (por ejemplo, conductos, cámaras, etc.), al menos, algunos de los mismos se definen en parte por las cavidades en el cuerpo del cartucho y, en parte, por la superficie de una capa de cubierta. Las capas de cubierta están preferiblemente compuestas de plástico tal como una película de Mylar. La capa de cubierta puede estar

50 recubierta con un adhesivo para sellar la capa de cubierta contra la capa del cartucho. Los trabajadores expertos en la materia conocerán otros métodos para acoplar la capa de cubierta del cuerpo del cartucho, por ejemplo, el sello puede lograrse mediante termosellado, soldadura por ultrasonidos, RF (radiofrecuencia), soldadura, soldadura con disolventes (aplicando un disolvente entre los componentes que ablanda o disuelve parcialmente una o ambas superficies), mediante el uso de una capa adhesiva intermedia (por ejemplo, una cinta adhesiva de doble cara, etc.).

55 Ventajosamente, los elementos del cartucho creados por la deposición estructurada (por ejemplo, la deposición estructurada de capas de electrodos o de capas dieléctricas y/o la deposición estructurada de reactivos para formar pastillas de reactivo seco o para formar dominios de unión con reactivos de unión inmovilizados) se crean en las capas de cubierta para aprovecharse de la automatización disponible para procesar la película de plástico en grandes hojas o rollos.

60 Las cavidades pueden, por ejemplo, moldearse, grabarse o mecanizarse a partir del cuerpo del cartucho. Por analogía, los componentes de fluidos pueden definirse también, al menos en parte, por las cavidades de una capa de cubierta que está acoplada a un cuerpo de cartucho. Los componentes de fluidos pueden definirse también, al menos en parte, por las zonas de recorte de las capas de junta colocadas entre el cuerpo del cartucho y las capas de cubierta. Las aberturas en el cuerpo del cartucho y/o las capas de cubierta pueden usarse para proporcionar los

65 puertos de acceso a la red de fluidos, por ejemplo, orificios de introducción de muestras, puertos de ventilación,

- orificios para la adición de reactivo y similares. Los puertos de ventilación, preferiblemente, permiten el equilibrio de líquidos en las cámaras con el entorno o permiten el movimiento dirigido de líquido hacia dentro o fuera de una cámara especificada por la aplicación de una presión positiva o negativa. Los puertos de ventilación están preferiblemente diseñados para prevenir la fuga de muestras o reactivos líquidos a través de los puertos y pueden
- 5 incluir filtros de resistencia a aerosoles, materiales de membrana o de filtros que permiten el flujo de aire pero actúan como barreras para las soluciones acuosas (por ejemplo, filtros o membranas hechos de materiales hidrófobos porosos tales como Gore-Tex), y materiales que son permeables al aire, pero estancos cuando entran en contacto con soluciones acuosas (por ejemplo, filtros impregnados de goma de celulosa).
- 10 Las formas de realización preferidas incluyen un cartucho con un cuerpo de cartucho con una primera cara y una segunda cara, preferiblemente opuesta y una o varias capas de cubierta acopladas a la primera cara para formar una primera red de fluidos entre las mismas, y una o varias capas de cubierta acoplada a la segunda cara para formar una segunda red de fluidos entre las mismas. Es posible utilizar agujeros que pasan a través del cuerpo del cartucho (que puede estar formado por moldeo, grabado, mecanizado, etc.) para unir la primera y la segunda red de fluidos y proporcionar perfiles adaptadores en Z. Es posible integrar en un cartucho una complejidad de fluidos adicional mediante el uso de un cuerpo de cartucho laminado con múltiples capas y redes de fluidos adicionales entre estas capas; los agujeros que pasan a través de las diferentes capas del cuerpo del cartucho se utilizan para enlazar las diferentes redes de fluidos.
- 15
- 20 Mediante el uso de las redes de fluidos que incluyen rupturas capilares es posible alcanzar un alto grado de control sobre el movimiento de los líquidos en los cartuchos sin la introducción de elementos de válvula activos en el cartucho. La «ruptura capilar», tal como se utiliza aquí, se refiere a una zona en un conducto de fluidos que actúa como una barrera al líquido en movimiento a través del conducto bajo la acción capilar o bajo la fuerza impulsora de un gradiente de presión baja, por debajo de un umbral de presión. En ejemplos preferidos de ruptura capilar, la aplicación de una presión superior a la presión umbral actúa para empujar el líquido más allá de la barrera. La ruptura capilar puede concebirse en conductos de fluidos, introduciendo, por ejemplo, i) una transición, sobre una superficie de un conducto, desde una superficie humectable a una superficie menos humectable (p. ej., como lo indica el ángulo de contacto del agua); ii) una transición en la anchura del conducto desde una zona de poca anchura que promueve el flujo capilar hacia una zona de mayor anchura; iii) una transición, sobre una superficie de un conducto, con respecto a la rugosidad; iv) un ángulo agudo o cambio de dirección y/o v) un cambio en la geometría de la sección transversal. En otra forma de realización, un conducto de fluidos tiene una pared flexible/diafragma que incide en el conducto y bloquea el flujo controlado por una presión por debajo de un umbral de presión. La aplicación de un aumento de presión fuerza la pared flexible/diafragma hacia fuera de la ruta de flujo y permite el paso del líquido. Preferiblemente, el diafragma está compuesto de un material (por ejemplo, Gortex) que permite el paso de los gases por el mismo, pero impide el flujo de líquido hasta una presión determinada. Las rupturas capilares preferidas implican un ángulo agudo o el cambio de dirección en un conducto de fluidos, más preferiblemente un «perfil adaptador en Z» como se ha descrito anteriormente.
- 25
- 30
- 35
- 40 En una forma de realización, se introduce un líquido en una cámara que consta de un conducto de salida que incluye una ruptura capilar (preferiblemente un perfil adaptador en Z). El líquido entra en el conducto de salida, pero se detiene en el perfil adaptador en Z. Entonces se aplica un gradiente de presión (por ejemplo, aplicando presión positiva a la cámara o presión negativa al otro extremo del conducto) que hace que el líquido fluya más allá del perfil adaptador en Z al resto del conducto.
- 45 Las rutas de fluidos en las redes de fluidos de un cartucho pueden incluir una o varias zonas de mayor resistencia hidrodinámica. En esas formas de realización, puede ser conveniente configurar las rutas de fluido en el cartucho y/o ciertas operaciones de fluidos utilizando el cartucho, de forma que el golpe de líquido que entre o salga de zonas de mayor resistencia hidrodinámica mantenga una velocidad relativamente constante si la presión de bombeo es constante. En una forma de realización no limitativa, un cartucho incluye una cámara de detección con conductos de entrada y salida, donde la cámara tiene una mayor resistencia hidrodinámica que los conductos de entrada y salida, por ejemplo, porque tiene una mayor relación de aspecto transversal y/o un área del corte transversal más pequeña. Las cámaras de detección con una relación de aspecto alta pueden ser ventajosas, en ciertas aplicaciones, proporcionando una gran ventana óptica en la cámara y/o incrementando el área de superficie de detección en relación con el volumen de la cámara de detección. Otras zonas en un cartucho que pueden tener alta resistencia hidrodinámica incluyen, pero no están limitadas a zonas llenas de medios de filtración o medios cromatográficos.
- 50
- 55
- 60 En ciertas formas de realización, se aborda el mantenimiento de una velocidad del líquido controlada a través de una zona de mayor resistencia hidrodinámica mediante la incorporación de una ruta de flujo de líquido ajustada a la resistencia hidrodinámica en la red de fluidos del cartucho. La ruta del flujo de líquido incluye varias zonas de fluidos (que pueden ser o incluir conductos de fluidos o cámaras), que se unen para formar la ruta de flujo de líquido. En una forma de realización, la ruta del flujo de líquido incluye, en secuencia, una primera zona de resistencia, una zona de conexión de baja resistencia y una zona de resistencia coincidente. La ruta del flujo de líquido puede, opcionalmente, también incluir una zona de entrada de baja resistencia, que ofrece una entrada de líquidos a la primera zona de resistencia y/o una zona de salida de baja resistencia, que proporciona una salida de líquidos hacia las zonas de resistencia coincidentes. La resistencia baja y coincidente, tal como se utiliza aquí, está en función de la resistencia hidrodinámica de la primera zona de resistencia.
- 65

La zona de conexión se puede proporcionar en el mismo plano que la primera zona de resistencia o puede estar en un plano diferente en función de los otros componentes de la ruta de flujo. Por ejemplo, la zona de conexión puede incluir un perfil adaptador en Z entre la primera zona de resistencia y la zona de resistencia coincidente. La zona de conexión se coloca en el orificio de salida de la primera zona de resistencia. La zona de resistencia coincidente, próxima a la zona de conexión y distal respecto a la primera zona de resistencia, está ubicada a lo largo de la ruta de flujo de líquido en el orificio de salida de la zona de conexión.

La resistencia hidrodinámica de la ruta de flujo de líquido puede estar incluida dentro de una red de fluidos (por ejemplo, una red de fluidos dentro de un cartucho de ensayo) que consta de un componente de medición ligado a la ruta del flujo de líquido y configurado para medir el golpe de líquido a través de la primera zona de resistencia, la zona de conexión y la zona de resistencia coincidente y las zonas opcionales de entrada y/o salida. La descripción incluye un método en el que se hace pasar un golpe de líquido a través de la ruta de flujo de líquido, preferiblemente utilizando aire a presión o vacío para conducir el movimiento del líquido. El volumen del golpe de líquido es mayor que el volumen de la primera zona de resistencia (V_r) y menor que los volúmenes combinados de la primera zona de resistencia, zona de conexión y zona coincidente ($V_r + V_c + V_m$). Así, como el golpe de líquido se desplaza a través de la ruta del flujo, la pérdida de la resistencia hidrodinámica del movimiento del borde posterior del golpe de líquido a través de la primera región de resistencia es compensada por el aumento de la resistencia hidrodinámica del movimiento del borde delantero del golpe de líquido en la zona coincidente. Por lo tanto, el líquido se desplaza a una velocidad controlada a lo largo de la ruta de flujo de líquido. En ausencia de la región coincidente, un golpe de líquido eliminado de la primera zona de resistencia, bajo la presión de aire, se acelerará cuando el borde posterior se desplace a través de la zona. Dicha aceleración podría tener efectos perjudiciales en el rendimiento de una red de fluidos, por ejemplo, cambiando las tasas de transporte masivo hacia las superficies en la ruta del flujo y/o evitando la humectación controlada de las superficies en el borde posterior de un golpe de líquido y, por lo tanto, provocando un aumento en el líquido remanente en las paredes de la ruta del flujo.

Por lo tanto, la ruta del flujo de líquido adaptada a la resistencia hidrodinámica consta de los siguientes componentes:

(a) una primera zona de resistencia;
 (b) una zona de conexión próxima a dicha primera zona de resistencia; y
 (c) una zona de resistencia coincidente próxima a dicha zona de conexión y en posición distal respecto a dicha primera zona de resistencia, donde la resistencia hidrodinámica de dicha zona de resistencia coincidente es sustancialmente equivalente a la resistencia hidrodinámica de dicha primera zona de resistencia y es sustancialmente mayor que la resistencia hidrodinámica de la zona de conexión.

La ruta de flujo puede incluir además d) una zona de entrada próxima a dicha primera zona de resistencia y en posición distal respecto a dicha zona de conexión y/o e) una zona de salida próxima a dicha zona de resistencia coincidente y en posición distal respecto a dicha zona de conexión. La ruta de flujo puede estar incluida dentro de una red de fluidos (que puede estar dentro de un cartucho de ensayo) que incluye un componente de medición para introducir un golpe de líquido medido en dicha ruta de flujo de líquido.

La descripción también proporciona un método para mover el líquido en una red de fluidos que incluye:

(a) la introducción de un golpe de líquido en una ruta del flujo adaptada a la resistencia hidrodinámica dentro de dicha red de fluidos, donde la ruta de flujo consta de los siguientes componentes:
 (i) una primera zona de resistencia;
 (ii) una zona de conexión próxima a dicha primera zona de resistencia; y
 (iii) una zona de resistencia coincidente próxima a dicha zona de conexión y en posición distal respecto a dicha primera zona de resistencia, y
 (b) mediante el uso de aire a presión para mover dicho golpe de líquido a través de dicha ruta de flujo.

En este método, la ruta de flujo está configurada de tal manera que i) la resistencia hidrodinámica de dicha zona de resistencia coincidente sea sustancialmente equivalente a la resistencia hidrodinámica de la primera zona de resistencia y sustancialmente mayor que la resistencia hidrodinámica de la zona de conexión; y que ii) el volumen del golpe de líquido sea mayor que el volumen de la primera zona de resistencia y menor que el volumen combinado de la primera zona de resistencia, la zona de conexión y la zona de resistencia coincidente. El método puede incluir además la medición de dicho golpe de líquido, antes de introducir dicho golpe de líquido en dicha ruta de flujo. Asimismo, la ruta de flujo puede incluir (c) una zona de entrada próxima a dicha primera zona de resistencia y en posición distal respecto a dicha zona de conexión y/o (d) una zona de salida próxima a dicha zona de resistencia coincidente y en posición distal respecto a dicha zona de conexión.

En algunas formas de realización de la ruta del flujo adaptada a la resistencia y los métodos para el uso de la misma, el volumen medido es aproximadamente igual a la suma de los volúmenes de la primera zona de resistencia

5 y las zonas de conexión. Por ejemplo, la suma de los volúmenes de la primera zona de resistencia y de la zona de conexión es aproximadamente del 75-125 %, aproximadamente del 85-115 % o aproximadamente del 95-105 % del volumen medido. En otras formas de realización, la suma de los volúmenes de la primera zona de resistencia y de la zona de conexión es aproximadamente del 85-100 % o aproximadamente del 95-100 % del volumen medido. En

10 otras formas de realización, la suma de los volúmenes de la primera zona de resistencia y de la zona de conexión puede ser aproximadamente del 100 % del volumen medido. Alternativamente, la suma de los volúmenes de la primera zona de resistencia y de la zona de conexión puede estar aproximadamente entre el 100 % y el 125 % del volumen medido, por ejemplo, alrededor del 100-115 %, o alrededor del 100-105 % del volumen medido.

- 15 10 La ruta del flujo adaptada a la resistencia puede utilizarse con golpes de líquido de bajo volumen en una red de microfluidos. Los volúmenes de los golpes de líquido pueden ser, por ejemplo, inferiores a 200 μl , inferiores a 50 μl o inferiores a 10 μl . En una forma de realización, se hizo pasar un golpe de líquido de entre 20 y 50 μl por la ruta del flujo adaptada a la resistencia. Dependiendo de la aplicación específica y algunas limitaciones al diseño de la red de fluidos, el volumen de la primera zona de resistencia en relación al volumen del golpe de líquido (o, alternativamente, 15 en relación con el volumen combinado de la primera zona de resistencia y de conexión) puede variar en un amplio rango. Los rangos adecuados incluyen el 10-90 %, el 20-80 % y el 30-70 %.

20 En la fig. 40, se representa de forma esquemática un ejemplo de una ruta del flujo de líquido adaptada a la resistencia hidrodinámica. La ruta del flujo de líquido incluye una zona de entrada (4010), una primera zona de resistencia (4020), una zona de conexión (4030), una zona de resistencia coincidente (4040) y una zona de salida (4050), tal como se ha descrito anteriormente. En este ejemplo específico, la primera zona de resistencia consta de una zona de soplado (4022) para proporcionar una transición suave de fluidos a la primera zona de resistencia desde la zona de entrada de menor resistencia. El resto de la primera zona de resistencia 4020 es una celda de flujo de alta relación de aspecto que puede configurarse como una cámara de detección. La zona de resistencia coincidente 4040 está diseñada para coincidir más o menos con la primera zona de resistencia coincidente 4020 en cuanto a volumen y resistencia hidrodinámica.

25 30 Un experto en la materia será capaz de elegir las geometrías para la primera zona de resistencia y la zona de resistencia coincidente que proporcionan resistencias hidrodinámicas sustancialmente iguales (por ejemplo, resistencias que se encuentran comprendidas dentro de un factor de 2, dentro de un factor de 1,4, o dentro de un factor de 1,1). Las geometrías de las dos zonas pueden ser, pero no es obligatorio que sean iguales y las áreas transversales pueden ser, pero no es obligatorio que sean constantes en toda la longitud de las zonas. La resistencia hidrodinámica (a veces también denominada resistencia hidráulica) de una ruta de flujo de líquido es proporcional a la caída de presión (ΔP) (generalmente medida en unidades de pascales) dividido por el caudal (Q) (generalmente medido en unidades de microlitros/segundo). Esto puede resumirse en la fórmula: $R_h = \Delta P/Q$, donde 35 R_h es la resistencia hidrodinámica. Las ecuaciones y el software para el cálculo de la resistencia hidrodinámica están disponibles, por ejemplo, en *Viscous Fluid Flow*, 2^a Ed., Frank M. White, McGraw-Hill (1991). A continuación, se proporcionan las ecuaciones para el cálculo de la resistencia de las dos geometrías de canal simple (en la pág. 120 de la referencia *Viscous Fluid Flow* se proporciona una fórmula exacta para las secciones transversales 40 rectangulares).

40 - canal de sección transversal circular (longitud total L , radio R):

$$45 R_h = \frac{8\mu L}{\pi R^4}$$

50 - sección transversal rectangular (ancho w y altura h , donde $h < w$)

$$R_h \approx \frac{12\mu L}{wh^3(1 - 0,630h/w)}.$$

55 En una forma de realización, la primera zona de resistencia mide alrededor de 5 milipulgadas x 120 milipulgadas (donde 1 milipulgada = 0,001 pulgadas = 25,4 micras) y la zona de resistencia coincidente mide alrededor de 10 milipulgadas x 80 milipulgadas. En una forma de realización alternativa, la altura de la primera zona de resistencia puede ser aproximadamente la mitad de la altura de la zona de resistencia coincidente. La fig. 41 es una representación gráfica de la relación de la zona de resistencia coincidente con respecto a la resistencia de la cámara de lectura en función de la altura y anchura de la zona coincidente (suponiendo una altura y anchura de la primera zona de resistencia de 5 milipulgadas x 120 milipulgadas). La relación se muestra en una escala logarítmica, por lo que 2 = 100 veces superior, 0 = igualado y -1 = 10 veces inferior. En el gráfico se define un área de diseño aproximada mediante las líneas A y B, y esta área de diseño puede utilizarse para seleccionar combinaciones de

alturas y anchuras (para un canal de sección transversal rectangular) que proporcionan una resistencia hidrodinámica conveniente.

Como se muestra en la figura, la zona de conexión de baja resistencia hidrodinámica 4030 puede proporcionar un perfil adaptador en Z entre las zonas en dos planos diferentes de una red de fluidos. Se selecciona el volumen de la zona de conexión 4030 para que sea superior o aproximadamente igual al volumen de una zona de «lanzamiento» en la entrada 4010 entre dos sitios de detección de líquido (4012) y (4014) que se muestran como flechas sólidas en la figura (que, por ejemplo, pueden estar ubicadas de forma que puedan detectar el líquido que entra o sale de la zona mediante un lector de cartuchos u otros instrumentos de control de fluidos). Esta configuración posibilita la mezcla del golpe de líquido en ambas direcciones en la primera zona de resistencia 4020 en un caudal de líquidos bien controlado bajo presión de aire o de vacío cuando el volumen del golpe de líquido es sustancialmente igual (por ejemplo, en el ámbito del 20 %, 10 % o del 1 %) para los volúmenes combinados de la primera zona de resistencia 4020, y el volumen del golpe de líquido es inferior a los volúmenes combinados de la primera zona de resistencia 4020 y de la zona de conexión 4030. Preferiblemente, el volumen del golpe de líquido es sustancialmente igual (por ejemplo, en el ámbito del 20 %, 10 % o del 1 %) de los volúmenes combinados de la primera zona de resistencia y la zona de conexión.

En ese sentido, la descripción incluye un método para mover el líquido en una red de fluidos que incluye i) la introducción de un golpe de líquido en una ruta de fluidos que consta de una zona de entrada (con una zona de lanzamiento), una primera zona de resistencia y una zona de conexión (donde la ruta de fluidos y el golpe de líquido son como se ha descrito anteriormente), ii) el movimiento del golpe de líquido bajo la presión del aire hasta que el borde posterior pase por el sitio de detección 4014, iii) el movimiento del golpe de líquido bajo la presión de aire en dirección contraria hasta que el borde delantero (es decir, el borde posterior del paso ii) pase por el sitio de detección 4012 y iv) la repetición de los pasos ii y iii una serie de veces para alcanzar una acción de mezcla en ambas direcciones. Con este método, la primera zona de resistencia 4020 permanece llena durante todo el proceso de mezcla, proporcionando así una resistencia hidrodinámica aproximadamente constante durante este tiempo. El método puede también eliminar el golpe de líquido desde la primera zona de resistencia pasando por una zona de resistencia coincidente, tal como se ha descrito anteriormente.

La red de fluidos puede incluir también válvulas para controlar el flujo del líquido a través del cartucho. Un experto en la materia de cartuchos de ensayos o dispositivos de microfluidos conocerá una gran variedad de válvulas convenientes (incluyendo válvulas mecánicas, válvulas basadas en flujo electrocinético, válvulas basadas en el diferencial térmico, etc.). En formas de realización preferidas, sin embargo, al menos uno y más preferiblemente todos los elementos controlados activamente son externos al cartucho. En una forma de realización, un conducto de fluidos tiene una pared/diafragma flexible que permite, en ausencia de una fuerza externa, que el líquido pase a través del conducto. La aplicación de una fuerza externa sobre la pared/diafragma (p. ej., de un pistón o mediante la aplicación de una presión de gas o hidrostática) hace que el diafragma incida sobre el conducto, impidiendo así el flujo de líquido.

La red de fluidos puede incluir al menos un conducto de medición de la viscosidad, preferiblemente vinculado a una cámara de muestras o conducto de muestras, con una entrada y una salida. El conducto está adaptado de modo que pueda introducirse una muestra de líquido en el conducto y que pueda ajustarse el tiempo que tarda el líquido para desplazarse entre dos ubicaciones dentro del conducto (preferiblemente mediante sensores como los sensores de impedancia o sensores ópticos en el cartucho o un lector de cartuchos asociado). Esta organización puede ser conveniente para medir los tiempos de coagulación de una muestra de sangre o de plasma. Para medir los tiempos de coagulación, el conducto o un componente ascendente incluye, preferiblemente, un reactivo seco necesario para una medición de coagulación específica (por ejemplo, el tiempo de coagulación activada, el tiempo de coagulación de sangre entera, el tiempo de protrombina, el tiempo de trombina, el tiempo de tromboplastina parcial y similares).

Los puertos de ventilación anteriormente descritos son, preferiblemente, aperturas en la superficie del cartucho que se encuentran en comunicación con las cámaras de los líquidos o los conductos de fluidos dentro del cartucho. En construcciones de cartucho laminado, pueden proporcionarse los puertos de ventilación, por ejemplo, mediante aberturas en las capas de cubierta que cierran frente al cuerpo del cartucho para definir redes de fluidos planas o, alternativamente, mediante orificios expuestos en una superficie del cuerpo del cartucho que se comunican con las redes de fluidos en el lado opuesto. Los puertos de ventilación actúan como puertos de control que permiten que un lector de cartuchos controle el movimiento del líquido en el cartucho, por ejemplo, mediante la combinación del sellado de uno o varios puertos, la apertura de uno o varios puertos a la presión atmosférica mediante la conexión de uno o varios puertos a una fuente de presión positiva y/o la conexión de uno o varios puertos a una fuente de presión negativa. Los puertos de ventilación también pueden utilizarse para introducir aire en flujos de líquidos que pasan a través de los conductos de fluidos, por ejemplo, para segmentar los flujos de líquidos con golpes de aire. La introducción de aire puede utilizarse para evitar la mezcla de dos golpes de líquidos que pasan de forma secuencial a través de un conducto, para eliminar un líquido de un conducto y/o para mejorar la eficacia de una etapa de lavado. Preferiblemente, los puertos de ventilación están colocados en una sola fila, en una ubicación común a lo largo de la anchura del cuerpo del cartucho. Esta disposición y configuración de los puntos de control, ventajosamente, facilitan una simplificación de la interfaz entre el lector de cartuchos y el cartucho. Por ejemplo, la utilización de dicha configuración preferida permite que el lector de cartuchos haga uso de un único dispositivo de

acoplamiento de fluidos para poner el cartucho en estado de comunicación de los fluidos con el lector de cartuchos. Esa configuración también permite simplificar el (o los) subsistemas de control de movimiento en el sentido de que pueda utilizarse un solo motor o dispositivo de accionamiento para accionar el dispositivo de acoplamiento de fluidos y moverlo hacia un acoplamiento de cierre con el cuerpo del cartucho. La fig. 9 es una representación esquemática del cartucho 900, una forma de realización preferida de un cartucho que incorpora muchas de las características de fluidos descritas anteriormente. Esta forma de realización ideal representa un cartucho que consta de una matriz de electrodos tal como se ha descrito anteriormente. El trabajador experto, sin embargo, puede adaptar fácilmente los componentes y el diseño de fluidos para cartuchos que emplean otros diseños de la cámara de detección y/o tecnologías de detección. El esquema del cartucho que se muestra en la fig. 9 consta de diversos compartimentos incluyendo una cámara de muestras 920, una cámara de reactivos de ensayo 925, las cámaras de residuos 930 y 931 y las cámaras de detección 945 y 946 que constan de las matrices de electrodos 949a y 949b y los contactos de los electrodos 997 y 998. También se representan en la fig. 9 los puertos/orificios de fluidos 950-953 y 980 que pueden utilizarse como puntos de control de fluidos, los orificios para facilitar que la cámara se equilibre con la presión atmosférica, los puertos para introducir burbujas o golpes de aire en un flujo de líquidos y/o como conexiones de fluidos a un lector de cartuchos. La fig. 9 también representa varios conductos de fluidos (se muestran como líneas que se conectan con las diferentes cámaras) que establecen una red de fluidos que conecta los diversos compartimentos y/o puertos/orificios de fluidos. Los conductos de fluidos pueden incluir puntos de distribución (por ejemplo, puntos de ramificación como el punto de distribución 976 que están adaptados para distribuir el líquido a dos o más ubicaciones/compartimentos en un cartucho). Otras características de fluidos que se muestran en la fig. 9 incluyen las zonas/cámaras de pastillas 990, 991 para cada una de las cámaras de lectura. La fig. 10 muestra una representación tridimensional de la red de fluidos formada por diversos componentes de fluidos que se emplean en una forma de realización preferida de la fig. 9.

La cámara de muestras 920 es una cámara definida dentro de un cartucho 900 que está adaptada para recibir una muestra, preferiblemente una muestra líquida, que va a ser analizada en el cartucho. La cámara de muestras 920 incluye un orificio para la introducción de muestra 921, y está unida al puerto de ventilación 953 a través de un conducto de ventilación y a las cámaras de detección 945 y 946 a través del conducto de la muestra 901 que posee las ramificaciones 940 y 941. Preferiblemente, el cartucho 900 también incluye un cierre sellable para el sellado del orificio de introducción de muestras 921. La cámara de reactivos 925 es una cámara adaptada para albergar un reactivo líquido e incluye un conducto de ventilación unido al puerto de ventilación 950 y un conducto de reactivo 902 unido al conducto de muestras (preferiblemente, entre la cámara de muestras 920 y el punto de distribución 976). También la cámara/trampa de aire 975 ligada al puerto de ventilación 980 está unida al conducto de muestras. Esta organización permite añadir/quitar el aire hacia/de la(s) corriente(s) de líquido (por ejemplo, corrientes de muestras o reactivo dirigidas desde la cámara de reactivos 925 o cámara de muestras 920 hacia las cámaras de detección 945 o 946) en la ruta de fluidos mediante la aplicación de presión positiva o succión al puerto de ventilación 980. Las cámaras/zonas de pastillas 990 y 991 albergan reactivos secos y están situadas, respectivamente, en la ruta de fluidos entre el puerto de muestras 920 y las cámaras de detección 945 y 946 para que el líquido que pasa a través de la cámara/zonas reconstituya los reactivos secos y lleve las soluciones resultantes a las cámaras de detección. Opcionalmente, es posible omitir la cámara de reactivos 925, la trampa de la cámara de aire 975, el puerto de ventilación 980 y/o las zonas de las cámaras de pastillas 990 y/o 991.

Las cámaras de detección 945 y 946 están adaptadas para llevar a cabo una medición física de la muestra, preferiblemente, una medición de electroquimioluminiscencia, siendo lo más preferible una medición que emplea una matriz de electrodos configurada para que los electrodos se disparen por pares (como se describió anteriormente). Opcionalmente, se omite la cámara de detección 946. Como se muestra en la forma de realización preferida de la fig. 9, las cámaras de detección 945 y 946 tienen secciones transversales geométricas diferentes de sus respectivos canales de entrada y salida con los que tienen comunicación de fluidos. Como tal, es preferible incorporar segmentos de fluidos de transición (947a,b y 948a,b) en las entradas y salidas de las cámaras de lectura, de modo que el flujo de líquido pase adecuadamente entre zonas dispares. Preferiblemente, el perfil adaptador está concebido para reducir al mínimo la longitud de la transición; por ejemplo, mediante la incorporación de difusores/boquillas con un ángulo tan amplio como sea posible, aun siendo lo suficientemente gradual para impedir la acumulación de burbujas de aire. Las cámaras de detección 945 y 946 están conectadas a través de los conductos de residuos 960, 961 con las cámaras de residuos 931 y 930. Las cámaras de residuos 930 y 931 son cámaras configuradas para albergar excedentes o residuos líquidos y están también conectadas, respectivamente, al puerto de ventilación 952 a través de un conducto de ventilación y al puerto de ventilación 951 a través de un conducto de ventilación. El uso de múltiples cámaras de residuos permite de forma ventajosa que el líquido fluya a través de las múltiples cámaras que se controlan de forma independiente a través de la aplicación de vacío o presión a los puertos de ventilación de la cámara de residuos. Alternativamente, se utiliza únicamente una cámara de residuos (por ejemplo, se omite la cámara de residuos 930, y las cámaras de detección de 945 y 946 están conectados a la cámara de residuos 931).

En cartuchos para la realización de ensayos de unión para los analitos de interés, las zonas de pastillas 990 y 991 incluyen preferiblemente reactivos de unión marcados (por ejemplo, anticuerpos, ácidos nucleicos, análogos marcados de los analitos de interés, etc.), las cámaras de detección 945 y/o 946 incluyen uno o varios reactivos de unión inmovilizados (preferiblemente, un conjunto de reactivos de unión inmovilizados, más preferiblemente inmovilizados en electrodos para la realización de ensayos de EQL), y la cámara de reactivos 925 consta de un

reactivo de lavado para la eliminación de solución de muestra y/o reactivos marcados que no se hayan unido de las cámaras de detección. En formas de realización, en las que se utiliza una de las cámaras de detección para ensayos de control o de calibración, la zona de pastillas asociada puede incluir reactivos de control como un analito añadido (por ejemplo, para utilizarse en ensayos de adición y mediciones de calibración o mediciones de ensayo de control).

- 5 La red de fluidos del cartucho 900 consta de perfiles adaptadores en Z que pueden actuar como rupturas capilares para la red de fluidos para extenderse hacia múltiples planos del cartucho. Véase, por ejemplo, los perfiles adaptadores en Z 1010-1014 en la figura 10. El perfil adaptador en Z 1011 del conducto de muestras y 1013 del conducto de reactivos actúan como rupturas capilares que confinan los líquidos de muestras y los líquidos de los reactivos a sus respectivas cámaras. El líquido puede moverse desde estas cámaras, en una manera controlada y reproducible, mediante la aplicación de un gradiente de presión conveniente. Los perfiles adaptadores en Z 1060 y 1061 permiten que los conductos de residuos crucen las ramificaciones de los conductos de muestra 940 y 941 colocándolos en diferentes capas del cartucho.
- 10 15 Las figuras 13a y 13b muestran vistas detalladas de una forma de realización del cartucho 900 que incluye el cuerpo del cartucho 1100 y las capas de cubierta 1324, 1350, 1320, 1321 y 1322 acopladas a las superficies del cuerpo del cartucho 1100. La figura 11 muestra vistas de la parte superior (fig. 11a), de la parte inferior (fig. 11b) y vistas isométricas (fig. 11c) del cuerpo del cartucho 1100. Las superficies superiores 1101, 1102 e inferiores 1103 del cuerpo del cartucho 1100 incorporan elementos de cavidades como canales, ranuras, pocillos, etc. (por ejemplo, por moldeo, mecanizado, grabado, etc.). Los elementos están sellados para constituir las cámaras y conductos del cartucho mediante la aplicación de capas de cubierta a la parte superior e inferior del cuerpo del cartucho. Para posibilitar volúmenes apropiados de la muestra y/o de los reactivos, el cuerpo del cartucho está provisto de una parte más gruesa 902 que incluye elementos (canales, ranuras, pocillos, compartimentos, etc.) que definen, en parte, las cámaras de muestra, de reactivo y de residuos. El resto del cartucho es, preferiblemente, mucho más fino, como para minimizar el peso del cartucho, el volumen y los costes de material y, en el caso de determinados diseños de cartucho preferidos, para permitir que los detectores ópticos sobrepasen tan cerca como sea posible la superficie superior de los electrodos incorporados en una capa de cubierta en la parte inferior del cartucho.
- 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 La cámara de reactivos 925, la cámara de muestras 920, las cámaras de residuos 930 y 931, y al menos partes de los conductos de muestra, reactivos y residuos 960 y 961 están formados por la tapa de sellado 1324 en el cuerpo del cartucho 1100. Las cámaras de detección 945 y 946 están formadas por la capa de cubierta selladora 1350 (que posee una capa conductora estructurada 1360 (que forma la matriz estructurada de los electrodos 963 que se muestra en la fig. 9) y la capa dieléctrica sobrepuerta y estructurada 1365) al cuerpo del cartucho 1100 a través de la capa de juntas intermedia 1331 (preferiblemente, compuesta de cinta adhesiva de doble cara). La profundidad, la longitud y la anchura de la cámara de detección están definidas por los recortes 1340 y 1341 en la capa de juntas. La capa de cubierta 1322 se acopla al cuerpo del cartucho 1100 a través de la capa de juntas 1330 (preferiblemente una cinta adhesiva de doble cara) para definir los segmentos del conducto, como 1060 presentado en la fig. 10, que (a través de la formación de los dobles perfiles adaptadores en Z) actúan como segmentos puente que conectan las redes de fluidos definidas por las capas de cubierta 1324 y 1350. Ventajosamente, el uso de una capa de cubierta «puente» permite que la capa de cubierta 1350 tenga electrodos estructurados (y, opcionalmente, reactivos de unión estructurados sobre los electrodos) para ser solo ligeramente más grande que los componentes estructurados. Esta disposición reduce el coste del componente estructurado. Alternativamente, es posible omitir la capa de cubierta puente y los dobles perfiles adaptadores en Z asociados, y las capas 1324 y 1350 pueden combinarse en una sola capa de cubierta contigua. Opcionalmente, las zonas de pastillas que contienen reactivos secos están situadas en la capa de cubierta 1332 en las regiones que están expuestas por las aberturas 1345 y 1346 en la junta 1330, de modo que los reactivos se reconstituyen en los líquidos que pasan por las zonas de pastillas en su camino hacia las cámaras de detección 945 y 946. La capa de cubierta 1321 sella la cámara/trampa de aire 976 y los segmentos superiores del conducto lateral que incluyen un doble perfil adaptador en Z que conecta los segmentos 1070 y 1071. La capa de cubierta 1320 sella el orificio de introducción de muestra 921 y el orificio de introducción de reactivo 922. En la forma de realización preferida que se muestra en las figuras 11 y 13, el cuerpo del cartucho incluye además las zonas para el acceso eléctrico 995 y 996 que, junto con los recortes 1370 y 1371 en la capa de juntas 1331, permiten el contacto eléctrico con los contactos de los electrodos 997, 998. Las zonas de acceso eléctrico son recortes o perforaciones en el cuerpo del cartucho configurado y organizado para alinearse con los contactos del electrodo.
- Finalmente, una parte del cuerpo del cartucho 1100 está adaptada y configurada para ser una ventana de detección óptica y está organizada en el registro óptico con los electrodos de registro para permitir la detección óptica de la luminiscencia generada por la matriz de electrodos. En una forma de realización especialmente preferida, el cuerpo del cartucho y/o las capas de cubierta están fabricadas con un material translúcido. El uso de materiales ópticamente transparentes tiene además la ventaja de que los detectores ópticos, por ejemplo, los detectores organizados dentro de un lector de cartuchos, puedan utilizarse para detectar la presencia de líquidos en los conductos. Estos detectores ópticos pueden utilizarse para asegurar que el cartucho esté funcionando correctamente y para proporcionar retroalimentación a los sistemas de control que controlan el movimiento del líquido en el cartucho. Alternativamente, el cuerpo del cartucho y/o las capas de cubierta pueden contener ventanillas para la detección óptica que son ubicaciones colocadas convenientemente que requieren detección

óptica de la presencia y/o composición de líquido (p. ej. la detección de reflectancia y transmitancia de una fuente de luz). La figura 12 muestra los lugares preferidos para los puntos de detección óptica 1210-1217 en el cartucho 900.

- 5 La figura 14a es una representación esquemática de los componentes de fluidos del cartucho 1400, otra forma de realización preferida del cartucho. Las figuras 14b y 14c muestran vistas detalladas de un diseño preferido del cartucho 1400. La figura 18 es una representación tridimensional de la red de fluidos de este diseño. El cartucho 1400 consta de una cámara de muestras 1420, una primera y segunda cámara de reactivos 1425 y 1426, las cámaras de detección de 1445 y 1446, las cámaras de residuos 1430 y 1431. La cámara de muestras 1420 está preferiblemente adaptada para acoger una muestra de líquido, y está unida a través del conducto de ventilación 1475 al puerto de ventilación 1480, y a través del conducto de muestras 1415 (incluyendo las ramificaciones del conducto de muestras 1440 y 1441 que se ramifica desde el punto de distribución 1540) a las cámaras de detección 1445 y 1446. El conducto de ventilación, preferiblemente, tiene forma de serpentina para aumentar su longitud e impedir que las burbujas en el líquido en la cámara de muestras 1420 vuelvan al puerto de ventilación 1480. El conducto de muestras 1415 incluye preferiblemente un perfil adaptador en Z cerca de la conexión del conducto a la cámara de muestras 1420 para impedir fugas prematuras de muestra de la cámara de muestras 1420. La cámara de muestras 1420 también posee un orificio de introducción de muestra 1416 y una tapa de inserción 1414 para sellar el puerto. Opcionalmente, las ramificaciones del conducto de muestras 1440 y/o 1441 incluyen zonas de pastillas de reactivo.
- 10 20 Las cámaras de reactivo 1425 y 1426 están, preferiblemente, adaptadas para albergar las ampollas de reactivo. La cámara de reactivos 1425 está conectada a través de un conducto de ventilación de reactivo hacia el puerto de ventilación 1450 y a través del conducto de reactivo 1470 hacia el conducto de muestras 1415. El conducto de reactivo 1470 también se conecta a través del conducto de ventilación 1482 al puerto de ventilación 1481 que puede utilizarse para introducir aire en el conducto de reactivo 1470 y conductos posteriores como las ramificaciones de los conductos de muestras 1440 y 1441. Ventajosamente, el conducto de reactivo 1470 tiene un segmento alargado entre el conducto de ventilación 1482 y el conducto de muestra 1415 que puede utilizarse como un área de representación para un volumen definido de reactivo líquido. Preferiblemente, este segmento alargado también incluye una zona de pastillas de reactivo para la introducción de un reactivo seco en el reactivo líquido que se alberga en la cámara de reactivos 1425. La cámara de reactivos 1426 está conectada mediante un conducto de ventilación de reactivo con el puerto de ventilación 1451 y mediante el conducto de reactivo 1427 con el conducto de muestras 1415 (cruzándose primero con el conducto de reactivo 1470 inmediatamente posterior al conducto de muestras 1415). Los conductos de reactivo 1427 y 1470 incluyen preferiblemente perfiles adaptadores en Z cerca de la conexión de los conductos a sus correspondientes cámaras de reactivo para evitar la fuga prematura del reactivo de las cámaras. Las cámaras de detección 1445 y 1446 incluyen preferiblemente reactivos de unión inmovilizados para los analitos de interés, preferiblemente una matriz de reactivos de unión, preferiblemente una matriz de reactivos de unión mantenidos en las matrices de electrodos para realizar mediciones de EQL, por ejemplo, las matrices de electrodos tal como se han descrito anteriormente. Las cámaras de detección 1445 y 1446 se conectan a las ramificaciones del conducto de muestras 1440 y 1441 y a los conductos de residuos 1460 y 1461. Las cámaras de residuos 1430 y 1431 se conectan a los conductos de residuos 1460 y 1461, a través de conductos de ventilación a los puertos de ventilación 1452 y 1453. Opcionalmente, se puede omitir una cámara de detección (y la correspondiente cámara de fluidos y de residuos).
- 15 25 30 35 40 45 50 55 60 65

El cartucho 1400 está adaptado para realizar ensayos con una y dos etapas de lavado (ensayos que implican el tratamiento de una cámara de detección con una o dos muestras/reactivos antes de llevar a cabo una etapa de lavado). Una forma de realización preferida de un ensayo con una etapa de lavado consta de: i) la introducción de la muestra de la cámara de muestras 1420 en las cámaras de detección 1445 y/o 1446 a través de las ramificaciones de los conductos de muestra 1440 y/o 1441 (opcionalmente, se introduce la muestra en las cámaras de detección incluyendo los reactivos reconstituidos tales como reactivos de unión marcados y/o reactivos de control/calibración recogidos en las zonas de pastillas incluidas en las ramificaciones de los conductos de muestra 1440 y/o 1441) ii) el lavado de las cámaras de detección con un reactivo de lavado incluido en la cámara de reactivos 1426 (preferiblemente el reactivo consta de un co-reactivo de electroquimioluminiscencia y proporciona un entorno adecuado para una medición de EQL) y iii) la exploración de los contenidos de la cámara de detección (preferiblemente, realizando una medición de EQL). En los cartuchos que realizan un protocolo de una sola etapa, puede omitirse la cámara de reactivos 1425 (en cuyo caso, el puerto de ventilación 1481 puede estar conectado directamente al conducto de reactivo 1427 o al conducto de muestras 1415. Una forma de realización preferida de un ensayo con dos etapas de lavado consta de: i) la introducción de la muestra de la cámara de muestras 1420 en las cámaras de detección 1445 y/o 1446 a través de las ramificaciones del conducto de muestras 1440 y/o 1441 (opcionalmente, se introduce la muestra en las cámaras de detección incluyendo los reactivos reconstituidos, como agentes de bloqueo, soluciones amortiguadoras, reactivos de unión marcados y/o reactivos de control/calibración recogidos en zonas de pastillas incluidas en las ramificaciones del conducto de muestras 1440 y/o 1441); ii) la introducción de un reactivo líquido desde la cámara de reactivos 1425 en las cámaras de detección 1445 y/o 1446 (opcionalmente, el reactivo introducido en las cámaras de detección incluye reactivos reconstituidos tales como agentes de bloqueo, soluciones amortiguadoras, reactivos de unión marcados y/o reactivos de control/calibración recogidos en las zonas de pastillas incluidas en el conducto de reactivo 1470); iii) el lavado de las cámaras de detección con un reactivo de lavado incluido en la cámara de reactivos 1426 (el reactivo preferiblemente consta de un co-reactivo de electroquimioluminiscencia y proporciona un entorno adecuado para una medición de EQL) y iv) la

exploración de los contenidos de la cámara de detección (preferiblemente, mediante la realización de una medición de EQL). Opcionalmente, se incluye una etapa de lavado entre los pasos (i) y (ii). Ventajosamente, el uso de un formato de dos etapas en los ensayos de unión permite que el analito u otros componentes en una muestra puedan unirse a los reactivos de unión inmovilizados en las cámaras de detección y eliminarse por lavado de las cámaras de detección antes de la introducción de reactivos de detección marcados (por ejemplo, reactivos de unión marcados para su uso en ensayos de unión tipo sándwich o analitos marcados para su uso en ensayos competitivos); la realización de ensayos en dos etapas puede ser ventajosa en ensayos competitivos y ensayos que se ven afectados de grandes efectos sobre la matriz de muestra o efectos de gancho. Es posible que algunos ensayos no requieran ninguna etapa de lavado (por ejemplo, los ensayos de EQL sin lavados pueden llevarse a cabo agregando un co-reactivo de EQL a la muestra); en los cartuchos en los que se realizan ensayos sin lavados (en los formatos de una o dos etapas), puede omitirse la cámara de reactivos 1426.

Como se muestra en la figura 14b, una forma de realización preferida del cartucho 1400 utiliza un diseño de cartucho laminar empleando un cuerpo de cartucho de dos partes (1410 y 1411) y las capas de cubierta 1401, 1402, 1403 y 1407. Para posibilitar volúmenes adecuados de muestra y/o de reactivos, el cuerpo del cartucho tiene una parte más gruesa que incluye elementos (canales, ranuras, pocillos, compartimentos, etc.) que definen, en parte, las cámaras de muestras, de reactivos y de residuos. El resto de los cartuchos es, preferiblemente, mucho más fino para minimizar el peso del cartucho, el volumen y los costes del material. El diseño de un cartucho con dos partes no es necesario pero es ventajoso para producir el cartucho mediante técnicas de moldeo por inyección a bajo coste, permitiendo que las zonas gruesas del cuerpo del cartucho sean ahuecadas, reduciendo así la cantidad de material necesario para la producción de un cartucho, reduciendo el tiempo necesario para enfriar las piezas antes de la eyeción de un troquel de moldeo por inyección y reduciendo la deformación de las piezas tras la liberación del molde. En este diseño ahuecado, los orificios a través del cuerpo del cartucho pueden ser proporcionados por tubos incorporados en los componentes del cuerpo 1410 y/o 1411 (véase, por ejemplo, el tubo 1439 en la fig. 14b). Estos tubos pueden acoplarse a los tubos o agujeros en los demás componentes del cuerpo para formar orificios a través del cuerpo. Este acoplamiento puede lograrse mediante una variedad de métodos incluyendo métodos de acoplamiento de tubos conocidos en la materia. Las técnicas preferidas incluyen técnicas de soldadura de plástico y/o el uso de ajuste a presión (preferiblemente, acoplando un tubo cónico con un diámetro exterior que disminuye desde d_{\max} hasta d_{\min} en su extremo con un tubo que tiene un diámetro interior entre d_{\max} y d_{\min}). En una forma de realización alternativa, se utiliza un cuerpo del cartucho de una sola parte.

Al menos algunas partes de los conductos de muestra, de reactivos y de ventilación están formadas por la cubierta selladora 1403 en la parte inferior del cuerpo del cartucho 1410. Las cámaras de detección 1445 y 1446, partes de las ramificaciones del conducto de muestras 1440 y 1441, y partes del conducto alargado de reactivo 1470 están formadas por la capa de cubierta selladora 1407 (con una capa conductora estructurada 1423 (que forma una matriz de electrodos estructurada análoga a la matriz de electrodos 963, que se muestra en la fig. 9) y las capas dieléctricas sobreuestas y estructuradas 1421, 1422) para bajar la parte del cuerpo del cartucho 1410 por la capa de juntas intermedia 1405 (preferiblemente, hecha de cinta adhesiva de doble cara). La profundidad, la longitud y la anchura de la cámara de detección están definidas por los recortes 1447 y 1448 en la capa de juntas. Los recortes 1406, 1408, 1412, 1413 en la capa de juntas exponen las zonas de las capas dieléctricas 1421 y 1422 a las ramificaciones de los conductos de muestra 1440 y 1441 y el conducto de reactivo alargado 1470. Ventajosamente, las pastillas de reactivo seco incluidas en estos reactivos están ubicadas en estas zonas. Esta elección de ubicaciones para pastillas permite que se dispensen las pastillas de reactivo seco y/o reactivo inmovilizado dentro de las cámaras de detección sobre un único sustrato. Preferiblemente, como se muestra en la figura 14, las ramificaciones del conducto de muestras 1440 y 1441 tienen segmentos que son adyacentes y/o prácticamente paralelos a las cámaras de detección 1445 y 1446 y un segmento en forma de «U» para permitir la conexión con las cámaras de detección. Esta disposición proporciona longitudes de conducto lo suficientemente largas para permitir la introducción de una muestra en el conducto y la mezcla de la muestra con una pastilla en el conducto antes de la introducción de la muestra a la cámara de detección. Estas longitudes se logran sin un aumento de la longitud del cartucho. Ventajosamente, este arreglo permite también que se utilice la capa estructurada del electrodo para llevar a cabo mediciones capacitivas o conductimétricas del líquido dentro de los conductos de muestra como se ha descrito anteriormente. Del mismo modo, el conducto de reactivo alargado 1470 tiene segmentos de entrada y de retorno conectados a través de un segmento en forma de «U», paralelo a las cámaras de detección 1445 y 1446. Los componentes inferiores del cuerpo de cartucho 1410 incluyen las zonas de acceso eléctrico 1432 y 1433 que, junto con los recortes de 1417 y 1418 en la capa de juntas 1405 permiten el contacto eléctrico con la capa conductora 1423.

La capa de cubierta 1402 se acopla al componente inferior del cuerpo del cartucho 1410 para definir los segmentos del conducto 1805 (que se ven fácilmente en la fig. 18a) que (conectando dos perfiles adaptadores en Z) actúan como segmentos puente que conectan las redes de fluidos definidas por las capas de cubierta 1403 y 1407. Opcionalmente, pueden utilizarse las zonas de pastillas formadas en la capa de cubierta 1402 en las superficies de los segmentos puente, incluidos en los conductos de muestra o de reactivo, para introducir los reactivos secos en la muestra o a los reactivos líquidos. La capa de cubierta 1401 se acopla al componente superior del cuerpo del cartucho 1411 y sella las cámaras de reactivo 1425 y 1426 impidiendo la liberación del líquido de las ampollas dentro de las cámaras. La capa de cubierta 1401 también sella los segmentos superiores del conducto lateral,

incluidos los segmentos de conexión de doble perfil adaptador en Z como los segmentos 1810 y 1815 que pueden verse fácilmente en la fig. 18a.

- 5 La figura 15a muestra una vista superior del componente superior del cuerpo 1411. Las figuras 16a y 16b muestran vistas superiores e inferiores del componente inferior del cuerpo 1410. Como se muestra en la fig. 15a, el componente superior del cartucho 1411 incluye preferiblemente las cámaras de reactivo 1425, 1426 que están configuradas para albergar las ampollas de reactivo. Los filtros 1515, 1516 son preferiblemente moldeados integralmente en la parte superior del componente del cartucho para garantizar que prácticamente la totalidad de los fragmentos de vidrio de las ampollas de vidrio rotas no tengan posibilidad de entrar en la red de fluidos y de obstruir o bloquear el flujo de líquido. Alternativamente, los filtros pueden ser componentes independientes que se incorporan a las cámaras de muestra y/o de reactivo de ensayo durante el proceso de montaje o de fabricación; por ejemplo, insertos que puedan encajarse preferiblemente en su lugar (véase, por ejemplo, los insertos 2020 y 2021 en la fig. 20).
- 10 15 El diseño de cartucho de dos piezas también simplifica convenientemente el empleo de otras medidas antiespumantes en las cámaras de residuos. Es posible incluir una red vertical, o pared parcial en las partes superiores de las cámaras de residuos 1610, 1611 ubicadas en la parte superior del componente de cartucho 1600, otra forma de realización del componente superior del cartucho 1411. Preferiblemente, se coloca la red antiespumante entre el respiradero de la cámara de residuos y la entrada a la cámara de residuos. La altura de la red antiespumante se extiende, preferiblemente, por toda la profundidad de la parte superior de la cámara de residuos, pero puede ser inferior a la profundidad total. Alternativamente, la red antiespumante puede extenderse más allá de la profundidad de la parte superior de la cámara de residuos, de manera que sobresale hacia la parte inferior de la cámara de residuos. Preferiblemente, se elige la altura de la red antiespumante para alcanzar un efecto antiespumante óptimo.
- 20 25 30 35 Como ya se ha tratado anteriormente, los conductos de entrada de las cámaras de residuos están colocados, preferiblemente, para entrar en las cámaras de residuos en una manera que permite que el residuo líquido discurre por la pared de la cámara de residuos para minimizar o eliminar la formación de espuma. Como se ilustra en la fig. 16a, los conductos de entrada 1615, 1616 cruzan una de las paredes de las cámaras de residuos. Además, los orificios de ventilación están configurados y colocados para acceder a las cámaras de residuos en un punto que va a estar por encima del nivel de líquido previsto. La ubicación de los orificios de ventilación de la cámara de residuos en o cerca de la parte superior de la cámara de residuos también ayuda a garantizar que cualquier formación de espuma que pueda producirse dentro de las cámaras no dé lugar a que entre líquido en el conducto de ventilación con posibilidad de contaminar el instrumento lector de cartuchos.
- 40 45 50 La figura 32 muestra un diagrama esquemático de la red de fluidos del cartucho 3200, una forma de realización preferida, configurada para extraer el analito de una matriz, preferiblemente de una varilla aplicadora, más preferiblemente de un hisopo. La figura 33 muestra una vista detallada de un diseño preferido del cartucho 3200. El cartucho 3200 muestra dos características preferidas de los cartuchos: una cámara de muestras para extraer el analito en una matriz y el uso de un lavado por «flujo inverso». En el cartucho 3200, la cámara de reactivos 3210 está unida al puerto de ventilación 3212 y al conducto de extracción de reactivo 3214 (que preferiblemente consta de un perfil adaptador en Z). La cámara de reactivos 3210 alberga un reactivo líquido idóneo para la extracción del analito. Preferiblemente, la cámara de reactivos alberga una ampolla de ácido nitroso o, más preferiblemente, una ampolla de un ácido (preferiblemente, ácido acético) y una sal de nitrato seca, fuera de la ampolla, de modo que la ruptura de la ampolla induce la formación de ácido nitroso. El ácido nitroso es un reactivo de extracción especialmente conveniente para la extracción de los antígenos de la pared celular de las bacterias grampositivas y también puede utilizarse para extraer los marcadores de otros microorganismos en muestras que contienen mucosidad como las muestras de las vías respiratorias superiores (véase, por ejemplo, los métodos de extracción y reactivos que se dan a conocer en la solicitud de patente estadounidense provisional 60/436,591, presentada el 26/12/2002, titulada "Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction").
- 55 60 65 El cartucho 3200 posee una cámara de muestras con forma alargada 3220 (una cámara de muestras configurada para la extracción de muestras, como las anteriormente descritas en relación con las figuras 28-30) conectada al conducto de reactivos de extracción 3214 y conducto de muestras 3224 para permitir el flujo del reactivo de extracción a través de la muestra (preferiblemente, a través del cabezal de un hisopo 3205). Tal y como se muestra en la figura 33, la cámara de muestras 3220 es, preferiblemente, angular o curva a lo largo de su dimensión alargada para ayudar a romper un hisopo marcado e insertado en el compartimento de la muestra. El conducto de muestras 3224 está conectado al colector de burbujas 3226 (preferiblemente conectado al orificio de ventilación 3266 del colector de burbujas) para eliminar el aire de la muestra extraída y de la cámara de residuos 3228 (que preferiblemente está conectada al orificio de ventilación 3262). Más abajo, el conducto de muestras 3224 está conectado a la cámara de detección 3230. El conducto de muestras 3224 incluye la zona de pastillas 3225 que podría albergar reactivos de unión marcados (por ejemplo, anticuerpos marcados para su uso como reactivos de detección en los inmunoensayos tipo sándwich) y/o un reactivo de neutralización (por ejemplo, un componente de solución amortiguadora de pH como Tris, Hepes, fosfato y similares) para neutralizar un reactivo de extracción ácido en la muestra (como el ácido nitroso).

La cámara de detección 3230 incluye, preferiblemente, reactivos de unión inmovilizados para los analitos de interés, preferiblemente una matriz de reactivos de unión, preferiblemente una matriz de reactivos de unión mantenidos en las matrices de electrodos para realizar mediciones de EQL, como se ha descrito anteriormente para otras formas de realización de cartuchos. En una forma de realización especialmente preferida, los reactivos de unión son anticuerpos dirigidos contra marcadores de organismos (incluyendo preferiblemente al menos una de las bacterias grampositivas, siendo lo más preferible una especie de *Streptococcus*) que pueden encontrarse en muestras que contienen mucosidad como la muestras de las vías respiratorias superiores (véase, por ejemplo, los organismos descritos en la solicitud de patente estadounidense provisional 60/436,591, presentada el 26/12/2002, titulada "Methods Compositions and Kits for Biomarker Extraction"). La cámara de detección 3230 está conectada a la cámara de reactivos de lavado 3240 a través del conducto de lavado de reactivo 3242 (que, preferiblemente, consta de un perfil adaptador en Z). El puerto de ventilación 3244 está colocado a lo largo del conducto de lavado del reactivo 3242, entre la cámara de detección 3230 y la cámara de lavado de reactivo 3240. La cámara de lavado de reactivo 3240 también está conectada al puerto de ventilación 3241. La cámara de lavado de reactivo 3240 incluye un reactivo de lavado líquido, preferiblemente en una ampolla. El reactivo de lavado líquido, preferiblemente, incluye un co-reactivo de EQL y proporciona un ambiente químico apropiado para una medición EQL.

La organización de los fluidos en el cartucho 3200 permite el flujo de avance de la muestra extraída a través de la zona de pastillas 3225 a la cámara de detección 3230 y el flujo inverso de la muestra a la cámara de residuos 3228 y del reactivo de lavado de la cámara de reactivos de lavado 3240 a la cámara de detección 3230.

El cartucho 3200 también posee una cámara de detección de control opcional 3250 que preferiblemente está configurada como la cámara de detección 3230. La organización de los fluidos del cartucho permite que el reactivo de lavado pase de la cámara de lavado de reactivo 3240 por la zona de pastillas 3225 a la cámara de detección 3250. La zona de pastillas 3225 incluye preferiblemente los mismos reactivos de unión que la zona de pastillas 3225 pero también incluye reactivos de control (preferiblemente, la cantidad predeterminada de los analitos medidos en la cámara de detección 3230), de modo que la reconstitución con reactivo de lavado constituye una muestra de control. La organización de los fluidos permite además el flujo de avance de la muestra de control a la cámara de residuos 3254 (que preferiblemente está conectada al orificio de ventilación de residuos 3264) y del reactivo de la cámara de reactivos de lavado 3240 a la cámara de detección 3250.

La figura 37 muestra un diagrama esquemático de la red de fluidos del cartucho 3700, una forma de realización alternativa de un cartucho configurado para extraer el analito de una matriz, preferiblemente de una varilla aplicadora, más preferiblemente de un hisopo. A diferencia del cartucho 3200, el cartucho 3700 está diseñado para dividir la muestra extraída entre dos cámaras de detección. El cartucho 3700 muestra también ciertos enfoques alternativos para elementos de fluidos en una red de fluidos que incluyen un enfoque alternativo para la recolección y eliminación de burbujas de una muestra extraída. El cartucho 3700 dispone de una cámara para la solución amortiguadora de extracción 3710 unida a un puerto de ventilación para la solución amortiguadora de extracción y, a través de un elemento de filtro integrado, a un conducto de solución amortiguadora de extracción (que, preferiblemente, incluye un perfil adaptador en Z). La cámara de la solución amortiguadora de extracción 3710 contiene un reactivo de extracción líquido (que puede estar en una ampolla de reactivo) para la extracción de analitos de interés. Dichas soluciones amortiguadoras de extracción pueden incluir amortiguadores de los que se sabe que son convenientes para extraer los analitos de interés específicos, para cuya medición el cartucho está diseñado, y también puede incluir agentes antiespumantes, incluyendo, sin limitación, SE-15, antiespumante 204, antiespumante A, antiespumante B, antiespumante C, antiespumante Y-30, y combinaciones de los mismos (disponibles en Sigma Aldrich Corp., Saint Louis, MO, www.sigmaldrich.com).

La descripción incluye cartuchos y métodos para la realización de pruebas para detectar infecciones de influenza. En particular, los solicitantes han descubierto que la sensibilidad de los ensayos para la detección del virus de la influenza y/o para determinar el subtipo de la influenza mediante la detección de las proteínas de hemaglutinina de la influenza puede mejorarse considerablemente mediante la extracción de las muestras en condiciones de acidez (pH 4,0 a 5,2 o 4,5 a 5,0). Los reactivos de extracción adecuados pueden alcanzar un pH ácido a través de la inclusión de ácidos fuertes como el ácido clorhídrico y el ácido sulfúrico. Ventajosamente, el reactivo de extracción es una solución tamponada en o cerca del pH requerido que incluye un agente amortiguador con capacidad tamponadora en el rango de pH adecuado (por ejemplo, los agentes amortiguadores apropiados incluyen, pero no están limitados a, agentes basados en ácidos carboxílicos como el ácido acético y el ácido láctico y, especialmente, los ácidos policarboxílicos, tales como el ácido cítrico y el ácido glutárico e incluir también soluciones amortiguadoras de amonio cuaternario, como MES). En una forma de realización, la concentración de la solución amortiguadora está entre 10 y 500 mM o entre 100 y 200 mM o alrededor de 117 mM y el pH de la solución amortiguadora está entre 4,0 a 5,2 o 4,5 a 5,0. En una forma de realización concreta, la solución amortiguadora incluye ácido glutárico 30 mM. Alternativamente, la solución amortiguadora puede incluir ácido cítrico 15 mM. Además, la solución amortiguadora puede incluir NaCl aproximadamente entre 0,10 y 0,5 M de NaCl, por ejemplo, NaCl 0,15 M. El reactivo de extracción también puede incluir un agente antiespumante y un tensioactivo (p. ej., un tensioactivo no iónico como Tween 20, Thesit, Triton X-100 o un tensioactivo iónico como el ácido deoxicólico o CHAPSO), preferiblemente a una concentración cercana o superior a la CMC. En una forma de realización, el reactivo de extracción incluye una concentración de Triton X-100 superior al 0,02 % o superior al 0,05 % o alrededor del 0,1 %. En una forma de realización, el reactivo de extracción contiene solución amortiguadora de glutarato (o

alternativamente, solución amortiguadora de citrato) a una concentración de entre 10 y 50 mM, una sal (por ejemplo, cloruro de sodio) a una concentración de entre 100 y 200 mM, un detergente no iónico (p. ej., Triton X-100) a una concentración entre 0,02 y 1 % y un agente antiespumante (p. ej., SE-15) a una concentración entre 0,1 y 1 % y tiene un pH entre 4,2 y 5,2.

- 5 En una forma de realización, el pH de la muestra extraída es al menos parcialmente neutralizado antes o durante el análisis de la muestra extraída por inmunoensayo. El método puede incluir, por tanto, el tratamiento de la muestra extraída con un reactivo (por ejemplo, una pastilla de un reactivo seco dentro de la red de fluidos del cartucho) que incluye un reactivo de neutralización que lleve el pH a 6,0 o más, a 6,5 o más o a 7,0 o más. El reactivo de neutralización puede ser una base fuerte como sodio o hidróxido de potasio o un agente amortiguador con capacidad tamponadora en el rango de pH adecuado (p. ej., HEPES, fosfato, Tris, etc.). En una forma de realización, la concentración, después de la reconstitución de la muestra extraída, es de entre 50-1000 mM o de entre 100 y 400 mM y el pH está entre 6,0 y 8,5 o entre 6,5 y 8,0.
- 10 15 La sensibilidad y especificidad de una prueba de influenza A con el cartucho de ensayo de la presente invención según lo calculado sobre un resultado de cultivo celular viral es aproximadamente del 75 % y del 100 %, respectivamente, y en una forma de realización, alrededor del 80 % y alrededor del 100 %, respectivamente. En una forma de realización concreta, la sensibilidad de una prueba de influenza A según lo calculado sobre un resultado de cultivo celular viral es aproximadamente del 82 % y la especificidad de una prueba de influenza A es alrededor del 99 %. La sensibilidad y especificidad de una prueba de influenza B con el cartucho de ensayo de la presente invención según lo calculado sobre un resultado de cultivo celular viral es aproximadamente del 75 % y del 100 %, respectivamente, y en una forma de realización, alrededor del 80 % y alrededor del 100 %, respectivamente. En una forma de realización concreta, la sensibilidad de una prueba de influenza B según lo calculado sobre un resultado de cultivo celular viral es aproximadamente del 81 % y la especificidad de una prueba de influenza B es alrededor del 100 %. La sensibilidad y especificidad de la influenza A, según lo calculado sobre un cultivo celular y viral por RT-PCR fue aproximadamente del 75 % y 100 %, respectivamente, y en una forma de realización, alrededor del 80 % y del 100 %, respectivamente. En una forma de realización concreta, la sensibilidad del virus de la influenza A, según lo calculado sobre un cultivo celular y viral por RT-PCR es alrededor de un 88 % y la especificidad de la influenza A, según lo calculado sobre un cultivo celular y viral por RT-PCR se acerca al 100 %. La sensibilidad y especificidad de una prueba de influenza B con el cartucho de ensayo de la presente invención según lo calculado sobre un resultado de cultivo celular viral y por RT-PCR fue aproximadamente de un 75 % y un 100 %, respectivamente. En una forma de realización específica, la sensibilidad del virus de la influenza B, según lo calculado sobre un cultivo celular viral y por RT-PCR es alrededor de un 79 % y la especificidad de la influenza B, según lo calculado sobre un cultivo celular viral y por RT-PCR se acerca al 100 %. La sensibilidad y especificidad de una prueba de influenza A/subtipo H1 según lo calculado sobre un resultado de cultivo celular viral y por RT-PCR fue aproximadamente de un 80 % y alrededor de un 100 %, respectivamente.
- 20 25 30 35

La cámara de muestras 3720, sin embargo, incluye elementos adicionales. En primer lugar, el filtro integrado está situado cerca del final de la cámara de muestras y la conexión al conducto de reactivo de extracción está situada a 1 o 2 cm (aproximadamente 1,5 cm) del extremo de la cámara. Las entradas y salidas de la cámara de muestras están situadas cerca de los extremos opuestos del cabezal de un hisopo nasal/de garganta típico, cuando el cabezal está totalmente insertado, posibilitando su extracción eficiente con el mínimo volumen de solución amortiguadora de extracción. En segundo lugar, la cámara de muestras consta de una primera zona y de una segunda zona, y estas zonas están orientadas en ángulo, la una con respecto a la otra; y ese ángulo ha sido escogido para doblar el eje tras la inserción de la varilla aplicadora en la cámara de muestras, promoviendo así la fractura del eje, y la cámara de muestras incluye dos elementos de retención del cabezal de recogida de muestras: la lengüeta 3721a y la plataforma 3721b; ambas pueden ser proporcionadas por un cuerpo de cartucho moldeado por inyección. En una forma de realización, la primera zona está próxima al orificio para la introducción de muestra y la segunda región está en posición distal al orificio para la introducción de muestra. La lengüeta 3721a se encuentra cerca del extremo de la cámara de muestras adyacente a la ubicación de un cabezal de hisopo completamente insertado. En una forma de realización, la segunda zona de la cámara de muestras termina en la base de una cámara de muestras, y las tres lengüetas están situadas en o cerca de la base de la cámara de muestras. La lengüeta está inclinada para permitir la inserción del cabezal del hisopo, pero también para recoger la matriz del cabezal del hisopo y evitar la eliminación o el giro del cabezal del hisopo del extremo de la cámara al romperse y eliminarse del eje del hisopo. En una forma de realización, la cámara de muestras incluye un lugar de extracción para el cabezal de recolección de muestra en o cerca del término de la cavidad de la cámara de muestras, y la lengüeta está colocada en la cavidad con el fin de retener el cabezal de recogida en el lugar de extracción. El lugar de extracción es un lugar dentro de la cámara de muestras, dentro del cual reside el cabezal de recogida una vez que el eje haya sido fracturado. La plataforma 3721b está ubicada aproximadamente en la ubicación del extremo fracturado del eje de un hisopo completamente insertado, y también actúa para impedir que el cabezal del hisopo se elimine una vez que el hisopo esté completamente insertado y fracturado. En una forma de realización, la plataforma está ubicada en o cerca de la base de la cámara de muestras en la segunda zona, tal como se ha definido. Como se indica, la plataforma puede definirse por una discontinuidad escalonada en la superficie interior de la cámara de muestras donde el radio de curvatura pasa de un radio inferior a uno superior. En una forma de realización, la cámara de muestras es curva y el radio de curvatura de la superficie interna, como función del aumento de profundidad en la cavidad alargada, pasa de un primer valor a un segundo valor más alto en la discontinuidad. En otra forma de realización, el radio de

curvatura de la cámara de muestras, en la primera zona es menor que el radio de curvatura de la cámara de muestras en la segunda zona y la plataforma está ubicada en la parte más larga de las superficies curvas que definen la cámara de muestras, de tal forma que cuando se rompe el eje de un hisopo en la cámara, se libera la tensión y el extremo del fragmento del hisopo unido al cabezal del hisopo es empujado contra la superficie más larga y curva, y es bloqueado por la plataforma. Por lo tanto, el usuario inserta la varilla aplicadora en la cámara de muestras y toca el cabezal del hisopo de la varilla aplicadora con el elemento de retención, es decir, la lengüeta, la plataforma o ambas, y la varilla aplicadora se rompe dentro de la cámara de muestras. El cabezal del hisopo es retenido dentro de la segunda zona de la cámara de muestras. La cámara de muestras también incluye una ranura para acomodar el mango del hisopo que sobresale del cabezal del hisopo fracturado.

El conducto de muestras 3224 está conectado al componente de recolección 3726 (que se muestra más detalladamente en la figura 37) donde se recoge la solución amortiguadora de extracción que pasa a través de la cámara de muestras y se eliminan las burbujas de aire. Más abajo, el componente de recolección está conectado a través de la intersección de fluidos de 4 canales 3728 y la intersección en T 3729 a los conductos 3730a y 3730b que conducen a las cámaras de detección 3731a y 3731b. Los conductos 3730a y 3730b incluyen zonas de pastillas de reactivo seco que pueden albergar reactivos de unión marcados (por ejemplo, anticuerpos marcados para su uso como reactivos de detección en inmunoensayos tipo sándwich) y/o un reactivo de neutralización (por ejemplo, un componente de solución amortiguadora de pH como Tris, Hepes, fosfato y similares), así como otros componentes de la mezcla de reacción de ensayo como tensioactivos, sales, agentes de bloqueo, etc.

Las cámaras de detección 3731a y 3731b incluyen, preferiblemente, reactivos de unión inmovilizados para analitos de interés, preferiblemente una matriz de reactivos de unión, preferiblemente una matriz de reactivos de unión mantenidos en las matrices de electrodos para realizar mediciones de EQL, como se ha descrito anteriormente para otras formas de realización de cartuchos. Las dos cámaras pueden tener las mismas matrices para permitir que se lleven a cabo mediciones por duplicado. Alternativamente, los dos canales tienen diferentes matrices para ampliar el número de ensayos multiplexados que puedan realizarse y/o para segregar los ensayos incompatibles. En una forma de realización, es posible procesar y consultar un canal de detección antes del procesamiento del segundo canal de detección.

En una forma de realización, los elementos de la matriz en un canal están configurados para la detección y tipificación de la influenza e incluyen los elementos de la matriz con anticuerpos contra la nucleoproteína del virus de la influenza A, la nucleoproteína del virus de la influenza B y, opcionalmente, controles positivos y negativos. El primer canal puede incluir otros elementos de la matriz para otros agentes infecciosos, incluyendo pero no limitándose a los virus de la influenza C, el virus paragripal, y el metapneumovirus humano. En esta forma de realización, el segundo canal está configurado por subtipos del virus de la influenza A e incluye los elementos de la matriz con anticuerpos para al menos dos subtipos de hemaglutinina diferentes (la cual puede incluir los subtipos estacionales comunes como H1 y H3, H1 del virus de la influenza de origen porcino (SOIV) y los subtipos de virus atípicos para humanos, potencialmente pandémicos, como H2, H5, H7 y H9). En ese sentido, los conductos 3730a y 3730b incluyen pastillas de reactivo seco con anticuerpos de detección convenientemente marcados para la realización de mediciones de los analitos diana de los elementos de la matriz en las correspondientes cámaras de detección (3731a y 3731b, respectivamente). Opcionalmente, el reactivo de extracción es un extracto ácido para una óptima presentación de los antígenos hemaglutinina (tal como se describió anteriormente) y las pastillas de reactivo seco incluyen una solución amortiguadora de neutralización en seco.

Las cámaras de detección 3731a y 3731b están unidas a las cámaras de residuos 3734a y 3734b a través de los conductos 3733a y 3733b. Las cámaras de detección son cámaras con una alta relación de aspecto con mayor resistencia hidrodinámica en relación con los conductos 3730a y 3730b y los perfiles adaptadores en Z 3732a y 3732b. Para habilitar el despeje bien controlado de líquidos desde las cámaras de detección, se configuran los conductos 3733a y 3733b como las zonas de resistencia coincidente que se adaptan a las resistencias hidrodinámicas de las cámaras de detección (como se describe en la fig. 40 y el texto que lo acompaña).

El cartucho 3700 también incluye una cámara para la solución amortiguadora de lavado 3740 para albergar una solución amortiguadora de lavado (que se puede proporcionar en una ampolla). El reactivo de lavado líquido, puede incluir un co-reactivo de EQL como TPA y puede ser utilizado tanto para lavar el exceso de muestra/reactivo de la cámara de detección como para proporcionar un adecuado ambiente químico para una medición de EQL. La cámara de la solución amortiguadora de lavado 3740 está ligada a los canales de detección a través del empalme de 4 canales 3728 y la intersección en T 3729. Se proporcionan orificios de ventilación para controlar el movimiento de líquidos en el cartucho al componente de recogida 3726, la cámara de la solución amortiguadora de extracción 3710, el empalme de 4 canales 3728, las cámaras de residuos 3734a y 3734b y la cámara de solución amortiguadora de lavado 3740.

La figura 39 muestra una vista detallada de la intersección de 4 canales 3728 e ilustra un método para formar intersecciones en múltiples conductos. Cuatro conductos co-planares (por ejemplo, conductos formados por canales de sellado en una superficie de un moldeado por inyección) están unidos mediante perfiles adaptadores en Z a un plano diferente en el cartucho (p. ej., la superficie opuesta de un cartucho moldeado por inyección). Un conducto formado sobre esta superficie opuesta une los perfiles adaptadores en Z, y proporciona el empalme de 4 canales.

En una forma de realización, la fig. 39 muestra un conducto de distribución interconectado a una gama de conductos de fluidos que comprende un conducto de salida, un conducto de cámara de detección conectado a la cámara de detección y, opcionalmente, uno o varios conductos de fluidos conectados a uno o varios componentes del cartucho seleccionados desde una cámara de solución amortiguadora de lavado, un respiradero, cámaras de detección, y combinaciones de los mismos. En una forma de realización, una conexión entre el conducto de distribución y uno de la gama de los conductos de fluidos incluye un perfil adaptador en Z. En una forma de realización específica, el cartucho puede incluir un respiradero, y uno o varios de los conductos de fluidos incluyen un conducto de ventilación de aire conectado al respiradero, donde el conducto de la cámara de detección está en posición distal del conducto de ventilación de aire. En otra forma de realización, el cartucho incluye una cámara de solución amortiguadora de lavado, y uno o varios de los conductos de fluidos incluyen un conducto de cámara de solución amortiguadora de lavado conectado a la cámara de solución amortiguadora de lavado, en el cual la cámara de solución amortiguadora de lavado se encuentra próxima al conducto de ventilación de aire y en posición distal respecto a dicho conducto de la cámara de detección. Por ejemplo, la gama de componentes del cartucho incluye un respiradero, y la gama de los conductos de fluidos incluyen (a) un primer conducto de fluidos conectado a una cámara de detección; (b) un segundo conducto de fluidos conectado a un componente de recolección; y c) un tercer conducto de fluidos conectado al conducto de ventilación de aire, donde el primer conducto de fluidos está en posición distal respecto al tercer conducto de fluidos. La gama de los componentes del cartucho puede también incluir una cámara para la solución amortiguadora de lavado, y la gama de los conductos de fluidos incluye además un conducto de fluidos adicional conectado a la cámara de solución amortiguadora de lavado, donde el conducto de fluidos adicional se encuentra próximo al tercer conducto de fluidos y en posición distal respecto al primer conducto de fluidos. En referencia a la fig. 39, el conducto de distribución 3901 está interconectado con una gama de conductos de fluidos 3902. Los conductos de fluidos pueden incluir una intersección en T, 3904. En la forma de realización representada en la fig. 39, la gama de los conductos de fluidos incluye un primer conducto (3906) que conduce a un respiradero, y en el lado opuesto del conducto de distribución hay un segundo conducto (3908) que conduce a una cámara de detección. La gama de los conductos de fluidos también puede incluir un tercer conducto de fluidos (3905), que conduce a una cámara de solución amortiguadora de lavado y un conducto adicional, 3907, que conduce a una cámara de recogida, donde el tercer conducto de fluidos y el conducto adicional están ubicados entre los conductos que conducen a la cámara de detección y el conducto que conduce al respiradero.

La figura 38 muestra el esquema detallado (fig. 38a) y el modelo sólido (fig. 38b) del componente de recolección 3726 e ilustra un enfoque para recoger muestras de pequeño volumen que puedan incluir burbujas, garantizando al mismo tiempo que se eliminan las burbujas y que se recoja un volumen definido de líquido. El componente de recolección incluye una cámara de recogida, 3810 y una cámara sensora, 3820. La cámara de recogida se conecta al i) conducto de entrada 3830 que se conecta a la parte superior de la cámara de recogida próxima a la pared de la cámara, ii) al conducto de salida 3840 que se conecta a la parte inferior de la cámara de recogida y iii) al conducto de detección 3850, que es un tubo que se extiende hacia abajo desde la parte superior de la cámara de recogida a una altura predefinida en la cámara. En una forma de realización, se introduce el líquido en la cámara de recogida a través de los conductos de entrada y se pone en contacto con un deflector (3815) y la pared de la cámara de recogida para restringir las burbujas dentro del líquido. La cámara sensora se conecta al conducto de detección en la parte superior de la cámara sensora en una posición próxima a una pared de la cámara y a un conducto de ventilación 3860 que también se conecta con la parte superior de la cámara de detección. La operación se ilustra en las figs. 38(c)-(e). La aplicación de vacío en el orificio del componente de recolección al abrir el respiradero de la solución amortiguadora de extracción (véase la figura 37) arrastra la solución amortiguadora de extracción a través de la cámara de muestras (y un cabezal de hisopo en la cámara de muestras, si hay uno) y, luego, a través del conducto 3830 y a la cámara de recogida donde se acumula el líquido exento de burbujas en la parte inferior de la cámara. Cuando el nivel de líquido alcanza el conducto de detección se transfiere toda la muestra adicional a través del conducto de detección a la cámara sensora. En una forma de realización, el volumen de líquido en la cámara de recogida es de unos 125 µl y el volumen de aire es de aproximadamente 250 µl, es decir, la proporción aproximada del volumen de líquido en la cámara de recogida con respecto al aire en el espacio es aproximadamente 1:2. Un sensor óptico 3824 (que puede estar en el lector de cartuchos que procesa el cartucho) está adaptado para detectar la presencia de líquido en la cámara de detección y, por lo tanto, para indicar que la cámara de recogida tiene una cantidad suficiente de muestra. La muestra recogida puede sacarse desde el conducto de la cámara de recogida 3840, por ejemplo, sellando el respiradero de la cámara de solución amortiguadora de extracción y aplicando vacío desde uno de los respiraderos de la cámara de residuos al abrir el componente de recolección de ventilación a la atmósfera (o, alternativamente, mediante la aplicación de presión positiva al respiradero del orificio del componente de recolección para llevar el líquido hacia uno de los respiraderos de la cámara de residuos). En una forma de realización, la cámara de residuos incluida en el cartucho de ensayo está configurada como se ha descrito anteriormente y representado en la fig. 38. En consecuencia, si el líquido introducido en la cámara de recogida contiene burbujas, el líquido que se transfiere a través del conducto de salida está básicamente exento de burbujas.

Como se muestra en las figuras 32, 33 y 37, los cartuchos 3200 y 3700 emplean, preferiblemente, muchas de las mismas características de diseño como las formas de realización preferidas del cartucho 900 y/o 1400 como el uso de perfiles adaptadores en Z, la construcción laminar, las matrices de electrodos, los segmentos puente, y similares. Como se muestra en la figura 33 para el cartucho 3200, los cartuchos tienen, preferiblemente, un diseño de dos piezas. Ventajosamente, este diseño permite que la cámara de muestras se pueda construir a partir de dos

secciones y simplifica la fabricación de una cámara alargada curva/angular. Como se muestra en la figura 33 para el cartucho 3200, los cartuchos 3200 también pueden incluir un código de barras 3295 u otra característica de identificación que pueda, por ejemplo, identificar el panel de ensayo realizado en el cartucho, el lote del cartucho, la fecha de fabricación, la fecha de vencimiento, los datos de calibración específicos del cartucho, el origen de la muestra, etc.

Los componentes de fluidos preferiblemente se adaptan y configuran para formar un sistema de fluidos que puedan ser controlados de forma selectiva a través de un instrumento lector de cartuchos. El lector de cartuchos 2300 se representa esquemáticamente en la fig. 23 e incorpora, preferiblemente, diversos subsistemas para realizar el ensayo predeterminado. El lector de cartuchos aparece albergando un cartucho 2390 que puede suministrarse por separado. Tal como se ha descrito, el lector de cartuchos incluye preferiblemente el manipulador del cartucho 2315, el manipulador de fluidos 2340 y los subsistemas electrónicos de ensayo 2330. Juntos, estos subsistemas son preferiblemente controlados por un sistema de control electrónico 2310, en general, responsable de dirigir el subsistema manipulador del cartucho para cargar y colocar el cartucho en el lector, para controlar y coordinar la introducción/el movimiento de líquidos a lo largo de la red de fluidos y de dirigir la electrónica del ensayo para realizar la medición del ensayo. El lector de cartuchos está preferiblemente envasado como una sola unidad independiente. En formas de realización preferidas que emplean ensayos basados en luminiscencia, se incorpora una pequeña zona opaca dentro de la carcasa general del lector de cartuchos. Esto permite la realización de un ensayo basado en luminiscencia dentro de una carcasa opaca para garantizar que las lecturas no se vean afectadas por la luz ambiental. Preferiblemente, los componentes electrónicos y otros componentes que generan calor se localizan fuera de la carcasa opaca.

El subsistema del manipulador del cartucho preferiblemente incluye un motor para arrastrar el cartucho a la carcasa del cartucho, y colocar de forma selectiva el cartucho dentro del lector de cartuchos; por ejemplo, colocar el cartucho en un sensor/detector 2335. En una forma de realización preferida, la retracción del cartucho dentro de la carcasa del lector de cartuchos puede acoplarse mecánicamente a uno o varios mecanismos dentro del lector de cartuchos para sincronizar/coordinar el funcionamiento de los mecanismos enlazados. Por ejemplo, la retracción del cartucho puede estar acoplada mecánicamente: al mecanismo del cierre de la puerta 2325 a la carcasa opaca después de que el cartucho haya entrado en la cámara; al subsistema electrónico del ensayo (que se describe a continuación más detalladamente) para permitir que los contactos eléctricos del lector de cartuchos 2330 se acoplen a los contactos eléctricos del cartucho, es decir, que se pongan en contacto eléctrico con los contactos de los electrodos de la matriz de electrodos; al colector de fluidos 2340 del subsistema del manipulador de fluidos (que se describe a continuación más detalladamente) para conectar los puertos de líquido del cartucho, es decir, para que esté en comunicación de fluidos con los puertos de fluidos del cartucho (por ejemplo, creando un sello de presión entre los puertos de fluidos del cartucho y el colector de fluidos); y/o el mecanismo de ruptura del módulo de reactivos 2350 del subsistema del manipulador de fluidos para permitir que los módulos de reactivos como las ampollas se rompan durante la etapa de retracción/colocación del cartucho.

En ciertas formas de realización, la etapa de medición puede incluir la lectura de la señal de cada cámara de lectura por separado. Mientras que esto pueda lograrse utilizando un único detector adecuado y una colocación óptima de las cámaras de lectura en relación con el detector individual, también es posible realizar una medición/detección satisfactoria mediante reubicación de la cámara de lectura requerida en relación con el detector individual o la reubicación del detector en relación con la cámara de lectura requerida. Para esa forma de realización, el subsistema del manipulador de cartuchos puede incluir un motor independiente para permitir la colocación del cartucho y/o el detector. En una forma de realización especialmente preferida, el subsistema del manipulador del cartucho está adaptado y configurado para precisar la posición del cartucho o el detector, o ambos, de tal manera que el detector se encuentre en alineación con el lugar exacto en que se esté realizando la medición; por ejemplo, el electrodo de trabajo que actualmente está siendo estimulado para producir EQL.

En una forma de realización preferida, se incorpora un lector de códigos de barras 2365 en el/dentro del lector de cartuchos para escanear preferiblemente de forma automática una marca/etiqueta de identificación 2370 en el cartucho; por ejemplo, como se señala en el lector. La etiqueta puede contener información codificada relativa a los ensayos específicos que vayan a realizarse, los parámetros de calibración y/o cualquier información adicional requerida para la realización del ensayo. Además, una forma de realización preferida puede incorporar un calefactor dentro del lector de cartuchos para calentar el cartucho a una temperatura predeterminada, por ejemplo, 37 °C, antes de continuar.

Preferiblemente, el lector no entra en contacto con los líquidos contenidos dentro del cartucho. Esta función puede realizarse mediante presión neumática aplicada en los puertos de ventilación para impulsar el líquido al interior del cartucho. El subsistema de controlador de fluidos preferiblemente incluye una bomba 2345 (preferiblemente una bomba de pistón) para aplicar de forma selectiva una presión positiva y/o negativa (es decir, aplicar un vacío) a uno o varios de los componentes de fluidos del cartucho a fin de controlar de forma selectiva el movimiento de líquidos dentro de y a través de los cartuchos y sus diversos componentes de fluidos. El subsistema del controlador de fluidos se ha adaptado y configurado preferiblemente para acoplar los fluidos del cartucho en uno o varios puntos del control de fluidos; por ejemplo, puertos de control positivo, puertos de ventilación y similares e incluye conectores de fluidos para proporcionar estos acoplamientos de fluidos. La aplicación selectiva de presión a los componentes de

fluidos del cartucho se logra preferiblemente mediante la incorporación de un colector de líquido 2340 ubicado dentro del lector de cartuchos para simplificar y mejorar la función de acoplamiento de fluidos y reducir al mínimo el número y la complejidad de los sistemas de fluidos. Ventajosamente, el colector de fluidos 2340 puede adaptarse y configurarse para facilitar el uso de una sola bomba; es decir, las válvulas de control 2342 pueden incorporarse dentro del colector de fluidos 2340 para controlar de forma selectiva el movimiento del líquido dentro y a través de los distintos componentes de fluidos del cartucho. El manipulador de fluidos preferiblemente incluye un sensor de presión para facilitar un movimiento preciso/repetible y/o la disposición de los líquidos dentro de la red de fluidos. Los conectores de fluidos, preferiblemente, incluyen tapones para la prevención de aerosoles o membranas selectivas al gas (es decir, materiales que permiten de forma selectiva el paso de gas, sin embargo, impiden el paso de líquidos) para evitar la contaminación de los líquidos del lector con los líquidos dentro de un cartucho. Los elementos que incluyen estos tapones o membranas, preferiblemente, se retiran y se reemplazan fácilmente si resultan contaminados con líquido. Los tapones para la prevención de aerosoles se utilizan habitualmente en las puntas de las pipetas para evitar la contaminación de los pipeteadores; incluyen materiales que permiten el paso del aire cuando está seco, pero se hinchan y sellan el paso cuando entran en contacto con líquidos (por ejemplo, filtros de materiales impregnados o recubiertos con goma de celulosa).

El subsistema del manipulador de fluidos emplea preferiblemente sensores de fluidos (no pueden verse en la fig. 23). Las figs. 12 y 17 ilustran diseños alternativos del sensor de fluidos en una disposición relativa al cartucho/red de fluidos), por ejemplo, fotosensores reflectantes, colocados en lugares predeterminados dentro de la red de fluidos.

De conformidad con estas formas de realización preferidas, los sensores de fluidos se colocan en un alineamiento registrado con los puntos de detección óptica marcados y situados en el cuerpo del cartucho. Los datos de la señal del sensor pueden utilizarse para proporcionar información de la posición del líquido que puede utilizarse para controlar los parámetros de funcionamiento de la bomba tales como la velocidad, la dirección y la duración de una determinada operación de la bomba. Además de un control preciso del movimiento del líquido dentro y a lo largo de todo el cartucho, pueden utilizarse los sensores de fluidos para controlar la mezcla de líquidos (p. ej., durante el periodo de incubación y evacuación de la muestra de las cámaras de lectura durante el ciclo de lavado y lectura), por ejemplo, mediante la definición de los límites del movimiento del golpe de líquido durante los movimientos del mezclado en ambas direcciones y/o mediante la medición de una propiedad óptica del líquido como la absorbancia o la dispersión de la luz que es indicativo del estado de una operación de mezclado. Los sensores de fluidos también pueden utilizarse para realizar mediciones de viscosidad en una muestra. En una forma de realización, la bomba del lector está destinada a mover el frente del líquido de una muestra a través de un conducto de fluidos de una posición a otra del sensor óptico mediante el accionamiento de la bomba a una velocidad predefinida o bajo condiciones destinadas a lograr un gradiente de presión predefinido. El tiempo necesario para mover el líquido entre las dos posiciones es indicativo de la viscosidad. Esa medición de la viscosidad se utiliza opcionalmente para medir el tiempo de coagulación de una muestra de sangre o plasma (por ejemplo, el tiempo de coagulación de sangre entera, el tiempo de trombina, el tiempo de protrombina, el tiempo de tromboplastina parcial y/o el tiempo de coagulación activada). Ese método puede, además, incluir la introducción de uno o varios reactivos de coagulación (por ejemplo, haciendo pasar la muestra a través de un reactivo seco que incluya estos reactivos) antes de realizar el paso de temporización. Los reactivos adecuados para medir el tiempo de trombina pueden incluir la trombina. Los reactivos adecuados para medir el tiempo de protrombina pueden incluir la tromboplastina y/o el calcio. Los reactivos adecuados para medir el tiempo de tromboplastina parcial pueden incluir la cefalina y una sustancia con carga negativa (preferiblemente, tierra de diatomeas, caolín, partículas de vidrio y/o el ácido elágico). Los reactivos adecuados para medir el tiempo de coagulación activada pueden incluir sustancias con carga negativa como la tierra de diatomeas, caolín, partículas de vidrio y/o ácido elágico).

Aunque el uso de sensores ópticos para controlar el flujo de líquido es ventajoso, no se requiere. En ciertas formas de realización alternativas, las operaciones de movimiento de líquido se realizan mediante el funcionamiento de una bomba durante un tiempo predefinido a velocidades predefinidas, o bajo condiciones que se hayan determinado (p. ej., a través de la calibración de la bomba) para producir un movimiento predefinido de un golpe de líquido.

El subsistema electrónico del ensayo incluye preferiblemente contactos eléctricos, sensores y circuitos electrónicos. Los contactos eléctricos 2330 están preferiblemente adaptados y configurados para ser puestos en contacto eléctrico con la matriz de electrodos. En una forma de realización preferida, el circuito electrónico del lector de cartuchos puede incluir circuitos de conmutación analógica y circuitos de ganancia de transimpedancia para dirigirse a un determinado par de electrodos (es decir, disparo por pares, que se ha explicado en detalle anteriormente) y aplicar una forma de onda de tensión predefinida al circuito formado por ese par de electrodos. Es posible medir de forma opcional la tensión y la corriente de salida real para fines de diagnóstico. Preferiblemente, la circuitería electrónica también es capaz de aplicar una onda de CA (por ejemplo, 500 Hz o menos) para mediciones capacitivas o conductivas (como se ha explicado anteriormente). Aún más, los circuitos electrónicos pueden ser configurados para generar señales de 20 kHz adecuadas para, por ejemplo, mediciones de hematocrito de muestras de sangre.

En una forma de realización especialmente preferida del lector de cartuchos configurado para la realización de análisis basados en luminiscencia, el cartucho lector puede emplear un detector óptico 2335, por ejemplo, un fotodiodo (siendo lo más preferible, un fotodiodo refrigerado, un tubo fotomultiplicador, un detector CCD, un detector CMOS o similar, para detectar y/o medir la luminiscencia/luz que emana de las cámaras de lectura. Si se emplea un

fotodiodo refrigerado, se puede integrar un termorefrigerador eléctrico y un sensor de temperatura en el mismo conjunto del fotodiodo para proporcionar un control selectivo por el sistema de control electrónico.

Para controlar de forma selectiva el funcionamiento del sistema basado en cartuchos, se utiliza preferiblemente un sistema de control computarizado 2310. El sistema de control computarizado puede estar plenamente integrado en el lector de cartuchos, separado del lector de cartuchos en un sistema alojado externamente y/o parcialmente integrado dentro y parcialmente separado del lector de cartuchos. Por ejemplo, el lector de cartuchos puede configurarse con puertos de comunicaciones externas (por ejemplo, RS-232, puerto paralelo, USB, IEEE 1394 y similares) para la conexión a un sistema informático de uso general (no se muestra) que preferiblemente está programado para controlar el lector de cartuchos y/o sus subsistemas. En una forma de realización preferida, puede utilizarse un único microprocesador integrado para controlar la electrónica y para coordinar las operaciones del cartucho. Además, el microprocesador puede también admitir una interfaz de operador integrada, y operaciones de conectividad y de administración de datos. La interfaz del operador integrada puede utilizar una pantalla integrada 2360 y/o dispositivos de entrada de datos integrados 2355 (por ejemplo, un teclado). El sistema de control computarizado puede, preferiblemente, incluir además un almacenamiento de memoria no volátil para almacenar los resultados del cartucho y los parámetros de configuración del instrumento.

La figura 34 muestra una vista seccionada y desglosada de un diseño preferido para el lector 2300 y también muestra un cajón 2386 (que preferiblemente consta de un calefactor de cartuchos integrado) en una guía lineal 2384 e impulsado por el motor 2380 para desplazar el cartucho hacia dentro y fuera del lector. La figura 34 también muestra el conjunto de sensores de fluidos 2388 (que alberga sensores, preferiblemente sensores ópticos) para la detección de líquido en las posiciones seleccionadas en el cartucho y un motor 2382 para formar el cartucho junto con el bastidor 2383 que es compatible con los conectores eléctricos (no se muestra en esta vista), conectores de fluidos (no se muestran en esta vista), el mecanismo de ruptura de ampollas 2350 y el fotodetector 2335.

La figura 24 ilustra una configuración preferida de válvulas en el subsistema de manejo de líquidos en un lector de cartuchos configurado para el uso con el cartucho 2500 (análogo al cartucho 1400) que se muestra en el diagrama de fluidos de la figura 25 (junto con los lugares preferidos para sensores para la detección de líquido del lector de cartuchos 1-15). El subsistema incluye un sistema de bombeo que consta de una bomba neumática (preferiblemente, un pistón de aire) asociado a un colector para bombas. El colector está conectado a las líneas de control (que incluyen las válvulas de control 2412A y 2412B) que conectan la bomba a determinados puertos de ventilación (preferiblemente, el puerto de ventilación de la cámara de residuos A 2512A y el puerto de ventilación de la cámara de residuos B puerto 2512B) en un cartucho y permiten que se utilice la bomba para mover el líquido en el cartucho hacia o lejos de los puertos de ventilación seleccionados.

El colector también se conecta a un conducto de ventilación de la bomba (que consta de una válvula del conducto de ventilación de la bomba 2492) para ventilar el colector de la bomba. Las válvulas de control tienen una posición cerrada que sella la línea de control y el puerto de ventilación del cartucho asociado, una posición abierta que conecta la bomba al puerto de ventilación del cartucho y, opcionalmente, una posición de ventilación que abre el puerto de ventilación del cartucho a la presión ambiente. La válvula del conducto de ventilación de la bomba tiene una posición cerrada que sella el puerto de ventilación de la bomba y una posición abierta que expone el colector de la bomba a la presión ambiente y libera presión/vacío en el colector de la bomba. El subsistema de manejo de líquidos consta de conductos de ventilación (que incluyen las válvulas de ventilación 2412, 2422, 2432A y 2432B) que permiten la ventilación de los puertos de ventilación (puerto de ventilación de la cámara de muestras 2512, puerto de ventilación 2522, puerto de ventilación 2532A de la cámara de reactivos A y el puerto de ventilación 2532B de la cámara de reactivos B, respectivamente) en un cartucho (preferiblemente, los puertos de ventilación del cartucho son distintos de los puertos de residuos del cartucho). Las válvulas de ventilación poseen una posición cerrada que sella el puerto de ventilación del cartucho asociado y una posición abierta que expone el puerto de ventilación a la presión ambiente. El subsistema de manejo de líquidos también puede incluir una pareja de sensores de presión al colector de la bomba para detectar la presión en el colector. Durante el control de fluidos de un cartucho, es preferible vigilar la presión en el colector para asegurar que se encuentre dentro de los rangos de presión esperados para operaciones concretas y confirmar que el sistema de manejo de fluidos está funcionando correctamente. La configuración específica de la válvula preferida que se muestra en la figura 24 está diseñada para mover el líquido principalmente mediante la aspiración hacia las cámaras de la válvula. Otras configuraciones de válvulas, por ejemplo, las configuraciones que impulsan líquidos, principalmente por presión positiva, serán evidentes para los expertos en la materia, y pueden ser válvulas que posibilitan que las cámaras que no sean cámaras de residuos se conecten a la bomba y/o que posibilitan que las cámaras de residuos tengan una salida directa a la atmósfera.

Conforme a otro aspecto, se proporciona un lector de cartucho preferido, como se muestra en las figs. 43(a)-43(g). En esta forma de realización, un lector de cartuchos preferido acoge el cartucho de ensayo e introduce el cartucho de ensayo en una carcasa opaca, donde la cantidad de luz ambiental que entra en el lector es mínima. La bandeja de cartuchos sostiene al cartucho de ensayo en la parte inferior y una bandeja de ajuste superior se ajusta para posibilitar el acceso al y el análisis del cartucho de ensayo por una gama de componentes de lectura dentro del lector de cartuchos. Un conjunto de fotodiodos con al menos un fotodiodo es capaz de moverse en una dirección

que es básicamente ortogonal a la dirección del cartucho de ensayo para proporcionar varios grados de libertad para el muestreo del cartucho de ensayo.

Referente a las figs. 43(a)-(g), se muestra una forma de realización preferida de un lector de cartuchos, en el que se describen los métodos preferidos para la carga y alineación de los cartuchos de ensayo en el lector. En las figs. 43(a) y 43(b), se muestra el lector de cartuchos 4300 para mayor claridad, sin la caja externa o carcasa y sin las paredes que definen una carcasa opaca dentro del lector de cartuchos 4300 (las ubicaciones de este se muestran con una línea punteada). El lector incluye una bandeja de cartuchos 4320 para albergar el cartucho 4380, que puede ser un cartucho para muestras líquidas o para muestras en hisopo como se ha descrito anteriormente, por ejemplo,

el cartucho para hisopos 3700 se muestra en la fig. 37(b). La bandeja 4320 está montada, a través del bloque de guía 4324 sobre el riel lineal 4314 para proporcionar el movimiento lineal de la bandeja dentro y fuera de la carcasa opaca. Mientras que el movimiento de la bandeja 4320 es preferiblemente lineal, no está limitado, y el riel 4314 y el movimiento de la bandeja 4320 pueden realizarse a largo de cualquier pista, incluyendo pistas lineales, segmentadas o curvilíneas. El movimiento de la bandeja 4320 a lo largo del riel es impulsado por el motor 4310 que gira el husillo 4312 y traslada la tuerca del husillo 4322 que está montada en la bandeja 4320. También se pueden usar otros métodos para mover la bandeja 4320. Cuando se retrae la bandeja de cartuchos 4320 de la posición completamente extendida que se muestra en la fig. 43(a) y se arrastra la bandeja a la carcasa opaca que se muestra en la fig. 43(b), se cierra la puerta 4302 para proporcionar a la carcasa opaca un cierre opaco.

Por lo tanto, el lector de cartuchos 4300 está configurado para analizar un ensayo realizado en un cartucho de ensayos que consta de (a) una carcasa; (b) una bandeja de cartuchos para sostener un cartucho durante el análisis en el lector de cartuchos; (c) un riel en la carcasa, donde se coloca la bandeja de cartuchos en el riel y, de modo que la bandeja pueda moverse hacia dentro y fuera de la carcasa desplazándose a lo largo del riel; (d) un accionador para mover la bandeja del cartucho a lo largo del riel; (e) un bastidor de montaje en la carcasa; el bastidor de montaje está configurado para alinear el cartucho con uno o varios componentes del lector; y (f) una guía de alineación unida a la bandeja de cartuchos que está configurada para interaccionar y controlar el movimiento del bastidor de montaje. El lector de cartuchos 4300 incluye una gama de componentes, como el lector de código de barras 4308, que lee códigos de barras u otra información de identificación en los costados de los cartuchos cuando se introduce la bandeja de cartuchos en el lector. Otros componentes del lector presentes en la carcasa opaca dentro del lector de cartuchos 4300 incluyen, pero no están limitados a, (i) un conjunto de fotodiodos 4330 que sostiene al menos un fotodiodo y se alinea con las ubicaciones del ensayo en el cartucho (que incluye un fotodiodo acoplador óptico y un apantallamiento, 4332), (ii) el bastidor de montaje 4340 sobre el que se monta el mecanismo de ruptura de ampollas 4350, p. ej., el rompedor de ampollas descrito en la fig. 42, (iii) el conjunto de clavijas conductoras para electrodos 4355, que sostiene las clavijas conductoras estableciendo el contacto eléctrico con los electrodos del cartucho, y (iv) el colector de fluidos 4360. El colector de fluidos 4360 incluye conectores de fluidos (no se muestran) que se acoplan a los puertos de ventilación en el cartucho cuando el cartucho está completamente insertado, por ejemplo, utilizando juntas o juntas tóricas para proporcionar precintos sin fugas. El colector de fluidos está también unido a una bomba de cilindro de aire 4306, que proporciona la fuente de vacío/presión para impulsar el movimiento del líquido en el cartucho. Las válvulas en el colector determinan si un puerto de ventilación en el cartucho está sellado, abierto a la atmósfera (ambiente) o conectado al cilindro de aire. En una forma de realización como ejemplo, las válvulas y las líneas de fluido están configuradas según el esquema de la válvula en la fig. 37, que permite que todos los puertos de ventilación estén sellados o abiertos a la presión ambiente y también permite que los puertos de residuos derecho e izquierdo, los puertos de la solución amortiguadora de lavado y los puertos del componente de recolección, p. ej., tal como se ha descrito anteriormente en relación con el cartucho 3700, estén conectados al cilindro de aire para posibilitar que los líquidos en el cartucho sean empujados o arrastrados desde estos puertos. El lector de cartuchos 4300 también incluye electrónica, como un ordenador o un microporcesador para controlar el funcionamiento del lector de cartuchos y una interfaz de usuario (pantalla táctil 4304, un teclado, un puntero o un ratón electrónico). Además, es posible proporcionar interfaces de comunicación (RS-232, Ethernet, USB, etc.) para comunicarse con una red o un sistema de información del laboratorio. El lector de cartuchos puede también proporcionar interfaces para dispositivos de memoria externos como tarjetas de memoria, EEPROM, dispositivos RFID, discos duros externos, unidades USB, etc. que pueden utilizarse para importar muchos parámetros específicos, por ejemplo, la información de identidad del ensayo, umbrales del ensayo específicos del lote, datos de calibración, etc., asociados con un lote de cartuchos. Dichos dispositivos de memoria se podrían proporcionar como un componente independiente a un kit, por ejemplo, una caja que contiene uno o varios cartuchos podría suministrarse con uno o varios dispositivos de memoria que contienen parámetros específicos del lote para los cartuchos de ensayo en la caja. Alternativamente, el dispositivo de memoria se podría conectar al cartucho, y el lector de cartuchos 4300 está configurado para leer la información específica del lote cuando se inserta el cartucho de ensayo 4380 en la ranura de procesamiento del lector de cartuchos o en una ranura independiente para la lectura de la memoria. A este respecto, se hace referencia a la solicitud de patente estadounidense provisional con n.º de serie 61/271,873, presentada el 27 de julio de 2009.

En la forma de realización que se muestra en las figs. 43(a)-(b), los movimientos mecánicos necesarios para mover correctamente y colocar el cartucho de ensayo 4380 y para alinear los componentes del lector, por ejemplo, el mecanismo de ruptura de ampollas 4350, el colector de fluidos 4360, el conjunto del contacto de electrodos 4355 y el conjunto de fotodiodos 4330, relativos al cartucho de ensayo 4380 están acoplados al movimiento lineal de la bandeja de cartuchos 4320, permitiendo que estas operaciones se realicen con un solo motor 4310. El diseño

mecánico que alinea apropiadamente los componentes en el bastidor de montaje 4340, incluido el conjunto para la ruptura de ampollas 4350 y el colector de fluidos 4360, se ilustra en las figs. 43(c)-43(e). El bastidor de montaje 4340 incluye los rodillos 4342 que están montados en pistas independientes presentes en las paredes de las pistas 4370 a ambos costados del bastidor de montaje. Sólo se muestra la pista en una pared lateral del bastidor de montaje

5 para ilustrar los componentes móviles, y aunque se muestren varias pistas 4370, también puede utilizarse una sola pista con varios segmentos lineales o no lineales. Las pistas tienen aproximadamente la forma de una «U», e incluyen, para alejarse de la parte frontal del lector de cartuchos 4300 o de la puerta 4302, un sector de plataforma elevada, una zona descendente inclinada y una extensa zona plana en la parte inferior de la pista en forma de «U». El movimiento del bastidor de montaje 4340 es impulsado por la guía de la alineación 4326 montada en la bandeja 10 de cartuchos 4320.

Cuando la bandeja de cartuchos está totalmente extendida, tal como se muestra en las figs. 43(a) y 43(c), los rodillos 4342 del bastidor de montaje 4340 están apoyados sobre las posiciones elevadas de la plataforma, manteniendo el bastidor de montaje 4340 en una posición elevada en relación con el cartucho en la bandeja de 15 cartuchos. Cuando la bandeja de cartuchos 4320 inicialmente se retrae en el cartucho lector 4300, la guía de alineación 4326 se mueve libremente a lo largo de la ranura 4346 en el bastidor de montaje 4340 sin tocar o acoplarse al bastidor de montaje 4340 y el bastidor de montaje permanece inmóvil. A medida que la bandeja de cartuchos 4320 continúa retrayéndose, una pestaña vertical en la guía de la alineación 4326 toca el pasador 4344 montado en el bastidor de montaje 4340 que cubre la ranura 4346 y mueve al bastidor de montaje 4340 a la misma 20 velocidad que la bandeja de cartuchos 4320. Como se muestra en la fig. 43(d), los rodillos 4342 descienden a lo largo de la parte descendente en la pared de la pista 4370, como se muestra con la flecha oblicua. Este movimiento descendente ocasiona que el pasador 4344 descienda hacia una muesca en la guía de alineación 4326 adyacente a la pestaña vertical y, por lo tanto, proporcione una alineación precisa del bastidor de montaje 4340 relativa a la 25 bandeja de cartuchos 4320 a lo largo del eje de movimiento. En otras palabras, en esta etapa, el bastidor de montaje 4340 se acerca a la bandeja de cartuchos 4320, y cuando se reciba el pasador 4344 en la muesca de la guía de alineación 4326 y se aloje ahí de forma liberable, los movimientos del bastidor de montaje 4340 y de la bandeja de cartuchos 4320 coinciden el uno con el otro. La fig. 43(a) muestra también la guía 4328 que se utiliza para guiar el 30 cartucho a la bandeja y asegurar que el cartucho pueda ser insertado en la bandeja únicamente en la orientación correcta. Cuando el bastidor de montaje 4340 se encuentra en su posición más baja, el conjunto para la ruptura de ampollas 4350 está bien colocado para romper las ampollas en el cartucho 4380 presente en la bandeja de cartuchos 4320; el colector de fluidos 4360 es pulsado hacia abajo, sobre el cartucho 4380 para proporcionar a los 35 puertos de ventilación del cartucho juntas sin fugas; y el conjunto de contactos de electrodos 4355 está colocado de manera que se establezca un buen contacto con los electrodos del cartucho. Cuando la bandeja de cartuchos 4320 se retrae aún más hacia dentro del lector, los rodillos 4342 pasan por la parte plana extendida de la pista 4370, y el bastidor de montaje 4340 y la bandeja de cartuchos 4320 permanecen en alineación y se mueven a la misma 40 velocidad y en la misma dirección, pero permitiendo la colocación de las ubicaciones específicas del ensayo, por ejemplo, los electrodos o los elementos de la matriz en el cartucho, debajo del conjunto de fotodiodos 4330. La elevación y liberación de bastidor de montaje 4340 durante la extensión de la bandeja de cartuchos sigue el proceso inverso al descrito para la retracción de la bandeja.

Las figs. 44(a)-(b) proporcionan una vista superior de la bandeja de cartuchos 4320 e ilustran las características presentes en la bandeja para permitir que el usuario pueda situar y bloquear de forma reproducible y con precisión el cartucho 4380 en la bandeja de cartuchos 4320. La fig. 44a muestra un cartucho que está parcialmente insertado en la bandeja, similar al que se muestra en las figs. 43(a) y 43(c). El cartucho 4380 tiene un listón y preferiblemente un listón estrecho a lo largo de ambos costados del cartucho que se inserta en las ranuras en ambos costados de la bandeja de cartuchos 4320. El extremo posterior del cartucho está estructurado para proporcionar una indicación visual y táctil para ayudar al operador a mantener y orientar el cartucho para una correcta inserción en el instrumento. El listón no se extiende a lo largo de toda la longitud del cartucho, sino que termina antes de esta zona ergonómica. Cuando el cartucho 4380 está completamente insertado en la bandeja, también pasa por debajo del pestillo 4420 del cartucho y toca el pasador 4424, que se extiende debajo del pestillo 4420 y hace que el pestillo gire sobre su eje. Este giro hace que un segundo pasador, el pasador 4426, se inserte en la ranura 4382 en el costado del cartucho 4380, y bloquee de forma liberable el cartucho en su posición, como se muestra en la fig. 44(b). El resorte 4428 está inicialmente tensado por el movimiento pivotante y añade resistencia al movimiento rotatorio, y el estiramiento se atenúa, ya que el resorte pasa el eje de rotación y comienza a ayudar a la rotación en lugar de resistirse a ella. El pasador 4426 se inserta en la muesca, transfiriendo de este modo la fuerza del resorte al cartucho y tirando del cartucho hasta que encuentra una superficie de referencia. La fuerza del resorte mantiene el cartucho en la posición de bloqueo y proporciona una retroalimentación positiva para el usuario de que el cartucho 55 está correctamente colocado. El usuario puede sacar el cartucho de la bandeja, al proporcionar una fuerza suficiente para compensar la fuerza del resorte que mantiene el cartucho en la posición bloqueada.

60 El pestillo 4420 posee la pestaña 4422 que cubre en la posición de bloqueo que se muestra en la fig. 44(b) el sensor óptico 4430 para posibilitar que el sistema electrónico del lector de cartuchos 4300 verifique que el cartucho está correctamente insertado. La pestaña puede tener un pasador (como se muestra en la figura) que se extiende hacia el sensor para proporcionar una señal óptica más fuerte. La bandeja posee sensores ópticos adicionales (como se indica en la fig. 37(b) y el texto asociado), incluidos los sensores 4440 para controlar la circulación de los golpes de líquido en el cartucho. La bandeja de cartuchos 4320 también puede incluir calefactores integrados (no se muestra)

para mantener el cartucho durante el procesamiento a las temperaturas establecidas. Las guías verticales poseen recortes laterales que permiten insertar la zona fina del listón del cartucho, pero no la zona ergonómica grande. Esto garantiza que el cartucho pueda insertarse en el instrumento en una sola orientación. Opcionalmente, la bandeja del cartucho está recubierta con un precinto resistente al agua para evitar cualquier fuga de líquido que afecte a los 5 sensores ópticos y otros componentes electrónicos en la bandeja de cartuchos 4320. El material de sellado (que puede ser una película polimérica) transmite la luz infrarroja utilizada por el sensor óptico. Preferiblemente, el precinto no transmite luz visible. La fig. 44(a) también muestra la guía de alineación 4326 y las guías verticales 10 4328a y 4328b en cada costado de la bandeja, como se ha descrito anteriormente. Opcionalmente, cuando se inserta el cartucho en la bandeja de cartuchos 4320, pasa una tapa del cartucho cerca de la superficie de la bandeja 15 de cartuchos 4320, que se muestra en las figs. 44(a)-(b) como una superficie de la guía vertical 4328a, para evitar la inserción de un cartucho que no esté correctamente tapado.

Las figs. 45(a)-(b) proporcionan dos vistas de los componentes del conjunto de fotodiodos 4330 que se utilizan para 20 alinear el fotodiodo 4510 con zonas específicas del ensayo en el cartucho 4380. El fotodiodo 4510 está acoplado al acoplador óptico 4516; se utiliza una guía de luz para maximizar la eficacia de la recolección de luz mientras no se requiera que el fotodiodo 4510 esté ubicado en posición directamente adyacente al cartucho 4380. La mayor parte 25 de la longitud del acoplador óptico 4516 está rodeada por una pantalla conductiva cilíndrica 4514 para blindar el fotodiodo de las cargas capacitivas. El fotodiodo 4510 está montado en el bloque itinerante 4520, que puede trasladarse de un lado otro o en una dirección transversal a lo largo de los cilindros guía 4522 que están montados de forma deslizante en el bastidor de montaje del fotodiodo 4530. El bloque itinerante 4520 está cargado por resorte 30 de modo que el bloque itinerante 4520 se detiene en las dos posiciones extremas de cada lado, y es necesario aplicar una fuerza suficiente para superar la fuerza de resorte para mover el bloque itinerante de un lado al otro. En una forma de realización, este resorte es proporcionado por las palancas de enclavamiento 4534 montadas en el bastidor de montaje del fotodiodo 4530. Los pasadores en las palancas 4534 acoplan las ranuras en el bastidor de montaje 4530 de tal forma que el movimiento de lado a lado del bloque itinerante dé lugar a que los pestillos giren y 35 tensen el resorte 4538. Los electrodos 4334 de la matriz de electrodos del cartucho 4380 se muestran en la vista detallada de la fig. 45(a) para mostrar sus posiciones relativas al fotodiodo 4510.

El bloque itinerante 4520, como se muestra en la fig. 45(b), ilustra los pasadores de posicionamiento del fotodiodo 4524, que se extienden desde el bloque itinerante 4520 hacia abajo, y acoplan el movimiento del bastidor de montaje 4340 con el movimiento lateral del bloque itinerante. Este movimiento acoplado se muestra de forma esquemática en las figs. 46(a)-(g). Cuando el bastidor de montaje 4340 está en la posición más baja, como se muestra en las figs. 43(d) y (e), el movimiento de la bandeja de cartuchos 4320 a lo largo de su eje da lugar a que un cartucho insertado 4380, representado de forma esquemática por dos conjuntos de electrodos 4334, y el bastidor de montaje 4340 se muevan o se trasladen a la misma velocidad. En las figs. 46(a)-(g), el bloque itinerante 4520 está 40 representado por una forma rectangular, y los pasadores de posicionamiento 4524 están representados por dos puntos oscuros. En la fig., 46(a), el bloque itinerante 4520 está colocado en su posición extrema izquierda y el movimiento o el traslado de la bandeja de cartuchos 4320 alinea el fotodiodo o preferiblemente el acoplador óptico 4516 con cualquiera de los electrodos en la celda de flujo a la izquierda. A medida que la bandeja del cartucho se 45 mueve hacia la posición extendida que se muestra en la fig. 46(b), el bloque itinerante 4520 permanece en la posición izquierda hasta que el pasador de posicionamiento izquierdo 4524 golpea una superficie de control inclinada, definida en el bastidor de montaje 4340, conduciendo el bloque itinerante 4520 a la posición correcta, como se muestra en la fig. 46(c). La retracción de la bandeja puede utilizarse para alinear el fotodiodo o acoplador óptico 4516 con los electrodos de la celda de flujo a la derecha. Durante este movimiento, el pasador de 50 posicionamiento 4524 entra en contacto con la leva pivotante cargada por resorte 4610, que está montada en el bastidor de montaje 4340, ocasionando que la leva pivotante 4610 gire alrededor del pivote 4612, como se muestra en la fig. 46(d). La fuerza del resorte proporcionada por el resorte 4614 se elige para que sea lo suficientemente baja para que el bloque itinerante permanezca en la posición en el extremo derecho, como se muestra en las figs. 46(d) y 46(e). Como se muestra en las figs. 46(f) y 46(g), el bloque itinerante 4520 es lanzado de vuelta a su posición en el 55 extremo izquierdo extendiéndose la bandeja hasta que el pasador de posicionamiento derecho 4524 contacta con una superficie de control inclinada, situada en la parte inferior de la leva pivotante 4610, que empuja el bloque itinerante 4520 a la izquierda, como se muestra en la fig. 46(f). Como se muestra, la leva pivotante 4610 está montada de manera que pueda girar en respuesta a una bandeja retráctil pero no en respuesta a una bandeja en extensión. En otras palabras, la leva pivotante 4610 resbala o gira cuando la bandeja de cartuchos 4320 se retrae como se muestra en las figs. 46(c)-(d), pero permanece rígida para empujar el bloque itinerante 4520 cuando la bandeja del cartucho se despliega, como se muestra en las figs. 46(e)-(f).

Con referencia a las figs. 24 a 26, se describe el rendimiento de un ensayo que utiliza un cartucho preferido de la invención. Este ejemplo de procedimiento se describe en el contexto de un ensayo de unión multiplexado de dos pasos que utiliza anticuerpos como reactivos de unión y EQL como la metodología de detección, sin embargo, será evidente para el experto en la técnica que las operaciones de fluidos descritas pueden utilizarse en una serie de formatos de ensayo diferentes (por ejemplo, ensayos de unión que utilizan otras clases de reactivos de unión, ensayos enzimáticos, etc.) y con una gama de tecnologías de detección diferentes. Es también evidente que la secuencia de operaciones que se aborda a continuación puede variar según las diferencias en la configuración de un cartucho en particular, así como las diferencias en el ensayo a realizar.

Durante el funcionamiento, puede utilizarse la válvula del conducto de ventilación de la bomba para activar y desactivar la presurización del sistema para un control más preciso del líquido; cuando la bomba de ventilación está abierta, el sistema regresa muy rápidamente a la presión ambiente. Las operaciones típicas de extracción de líquido, es decir, el recorrido del líquido dentro y a lo largo de la red de fluidos, implican el cierre de la válvula de ventilación de la bomba y la apertura de i) una o varias (preferiblemente una) de las válvulas de ventilación del cartucho, por ejemplo, las válvulas de la cámara de muestras, de aire, de reactivos A y/o las válvulas de la cámara de reactivos B y ii) una o varias (preferiblemente una) válvula de control, por ejemplo, las válvulas de control de la cámara de residuos A o de la cámara de residuos B. Por lo tanto, se mueve un golpe de líquido a lo largo de una ruta por la red de fluidos en el cartucho cuando los canales de fluidos que conforman ese camino se ventilan de aire en un extremo y están sometidos a presión o vacío en el otro extremo.

Un usuario selecciona el cartucho adecuado para llevar a cabo una medición requerida e introduce la muestra en el orificio de introducción de muestra de un cartucho y, preferiblemente, precinta un cierre en el orificio de introducción de muestra. El cartucho se inserta en el lector. El cartucho incluye, preferiblemente, características que garanticen que se inserta el cartucho en la orientación adecuada; por ejemplo, mediante la incorporación de marcas de identificación que indican en qué dirección debe colocarse en la bandeja y/o las características mecánicas que guían al usuario para colocarlo en la orientación correcta. Despues de que el usuario haya logrado preparar e insertar el cartucho, se realiza la lectura/procesamiento del cartucho mediante el lector de cartuchos tras recibir una indicación del usuario de que el ciclo de lectura debe comenzar (como alternativa, el lector puede iniciar automáticamente la operación tras confirmar que un cartucho adecuadamente preparado ha sido insertado correctamente en el lector de cartuchos). La lectura posterior del cartucho está preferiblemente automatizada; por ejemplo, el sistema de control electrónico del lector de cartuchos (sistema de control computarizado o similar) procesa automáticamente y lee el cartucho.

A continuación, se describe la secuencia automática de operaciones que debe realizar el lector de cartuchos. Preferiblemente, el cartucho incluye indicios legibles por la máquina, por ejemplo, códigos de barras, que son detectados y procesados por el lector de cartuchos. Por ejemplo, el procesamiento de los indicios legibles por la máquina puede permitir que el lector de cartuchos verifique que un código de barras, válido y legible, haya sido detectado y, a continuación, determine los parámetros operativos para el presente ciclo de lectura; es decir, que determine el conjunto de ensayos/pruebas que deben realizarse, que extraiga cualquier parámetro pertinente de configuración del instrumento y compruebe la fecha de caducidad. En ciertas formas de realización preferidas, el lector de cartuchos puede solicitar al usuario los datos que necesite; por ejemplo, el identificador del operador, identificadores de muestra o de paciente, y similares. Además, si el cartucho es capaz de ejecutar un grupo de pruebas, el usuario puede ser capaz de seleccionar la(s) prueba(s) dentro del panel que desearía realizar.

Preferiblemente, el lector tiene un subsistema de manipulación de cartuchos que se acopla mecánicamente a los cartuchos y lo mueve/aligna hasta su posición. Preferiblemente, este proceso incluye la colocación del cartucho dentro de una carcasa opaca. El lector también crea las conexiones de fluidos y/o electrónicas adecuadas para el cartucho y, opcionalmente, rompe o perfora algún módulo de reactivo (por ejemplo, ampollas de reactivo) presente en las cámaras de reactivo del cartucho. Como se abordó anteriormente, en una forma de realización preferida, el movimiento del manipulador del cartucho puede acoplarse físicamente a los manipuladores de fluidos y los manipuladores electrónicos (y, opcionalmente, el mecanismo de liberación del módulo de reactivo), de tal manera que tras la colocación del cartucho dentro de la carcasa opaca, los contactos eléctricos y el colector de fluidos acoplan al cartucho en sus respectivos puntos de enganche (y, opcionalmente, los mecanismos de liberación del módulo de reactivo libera el reactivo de cualquier módulo de reactivo). A continuación, cuando sea necesario o preferido, el sistema de control electrónico comienza a activar un calefactor para llevar el cartucho a una temperatura conveniente predeterminada y mantener el cartucho en esa temperatura objetivo. En ciertas formas de realización preferidas, es posible controlar la regulación de la temperatura mediante un microprocesador que emplea un control proporcional derivativo para controlar un calefactor que mantenga la temperatura objetivo; preferiblemente se emplea un algoritmo adecuado.

Una vez que el cartucho se haya mantenido a la temperatura objetivo durante un periodo de tiempo predeterminado, el controlador de líquido puede empezar a procesar el cartucho para la lectura; es decir, montar el ensayo. Se hace referencia a la fig. 26 para ilustrar los estados intermedios del lector de cartuchos, y la posición del líquido dentro de la red de fluidos del cartucho 2500 durante un formato de ensayo de 2 etapas. Tal como se presenta en la fig. 26, se ilustra el estado inicial del cartucho 2500 (panel 2601) y se representa la ubicación de los líquidos constituyentes dentro de la red de fluidos. El conjunto del ensayo comprende preferiblemente la dosificación de determinados volúmenes del líquido de la muestra, la reconstitución de los reactivos desecados en el líquido de la muestra y la incubación del líquido de la muestra en las cámaras de detección. Se abren las válvulas predeterminadas en una secuencia prescrita de acuerdo con las rutas de flujo de líquidos requeridas que van a ser asumidas por los líquidos constituyentes.

Conforme a la forma de realización actual en la que están presentes dos cámaras de lectura que se utilizarán para analizar la muestra, se trazarán dos longitudes iguales de líquido de muestra (es decir, golpes de líquido); la longitud de los golpes de líquido de la muestra se determina por el volumen de las cámaras de lectura. Los golpes de líquido de la muestra se delimitan el uno del otro, mediante la introducción de un golpe de aire entre los dos golpes de

5 muestras. En consecuencia, se abren la válvula de ventilación de la cámara de muestras 2412 y una válvula de ventilación de la cámara de residuos 2442A, y el respiradero de la bomba se cierra. A continuación, la bomba se activa para aspirar/extraer la muestra de la cámara de muestras 2510 (preferiblemente, superando una ruptura capilar proporcionada por un perfil adaptador en Z que se usa para impedir la fuga de la muestra de la cámara de muestras) a la ramificación del conducto de muestras 2515A. En ésta y otras etapas de bombeo, un sensor de presión (no se muestra), preferiblemente, detecta la presión creada por la operación y proporciona la confirmación de que la bomba está aspirando/dispensando el líquido correctamente. Cuando se detecta el líquido en el sensor 3 (véase la fig. 26, 2602), la válvula de ventilación de la bomba se abre, y el motor de la bomba se desactiva. La válvula de ventilación de la cámara de muestras 2412 y la válvula de ventilación de la cámara de residuos 2442A se cierran a continuación. Asimismo, la muestra se extrae hasta la ramificación del conducto de muestras 2515B accionando la bomba con la válvula de ventilación de la cámara de muestras 2412 y la válvula de ventilación de la cámara de residuos B 2442B abiertas (véase la fig. 26 panel, 2603). Se extraen golpes definidos de líquido de muestra hasta las ramificaciones del conducto de muestras accionando la bomba con la válvula de ventilación 2422 abierta, así como las válvulas de ventilación de las cámaras de residuos A y B 2442A-B (véase la fig. 26 panel, 2604). En éste y los pasos siguientes, pueden moverse dos golpes de líquido simultáneamente por las ramificaciones del conducto de muestras 2515A y B, manteniendo abiertas ambas válvulas de ventilación de las cámaras de residuos o de forma secuencial a través de las ramificaciones, abriendo una por una.

20 Las ramificaciones del conducto de muestras incluyen, preferiblemente, pastillas de reactivo seco (que contienen preferiblemente uno o varios reactivos seleccionados de entre agentes bloqueadores, amortiguadores de pH, sales, marcadores, reactivos de unión, y similares). Una o varias de las ramificaciones del conducto también pueden incluir analito enriquecido para controles de adición. Con el fin de reconstituir el reactivo seco, los dos golpes de líquido de muestra se mueven hacia adelante y atrás en la zona de pastilla un determinado número de veces abriendo la válvula de ventilación 2422 y las válvulas de ventilación de las cámaras de residuos 2442A y/o B y accionando la bomba para alternar entre la aplicación de presión positiva y negativa a las rejillas de ventilación de la cámara de residuos (fig. 26 paneles, 2605-2606). Los dos golpes de líquido de la muestra pueden moverse hacia adelante y hacia atrás simultáneamente, o la mezcla de los dos golpes de líquido puede realizarse en serie. El número de veces en que el líquido de muestra se mueve reiteradamente por la zona de pastillas puede depender de una serie de factores, incluyendo, pero no estando limitado a, el tamaño/volumen de la pastilla seca del reactivo, la 25 composición de la pastilla de reactivo, el método de secado empleado en el momento de la deposición del reactivo/formación de la pastilla y similares. De conformidad con los modos de realización preferidos, el número de repeticiones que el subsistema del controlador de líquido necesita realizar puede ser específico del cartucho y puede ser reconocido por el lector de cartuchos de forma automática a partir de la información codificada en los indicios legibles por máquina pegados/incorporados en el cartucho. El número de repeticiones puede determinarse mediante 30 resultados empíricos, pero también puede determinarse in situ mediante la utilización de uno o varios sensores adaptados y configurados para medir el grado de mezcla del (de los) reactivo(s) y el líquido de muestra; por ejemplo, el uso de sensores ópticos (transmitancia o reflectancia), sensores eléctricos (impedancia, conductividad, resistencia y similares).

40 Los golpes de líquido de muestra se mueven ahora a sus cámaras de detección 2550A y 2550B accionando la bomba con la válvula de ventilación 2422 y la válvula de ventilación de la cámara de residuos 2442A abierta hasta que el golpe de líquido es detectado en el sensor 7, y accionando la bomba con la válvula de ventilación 2422 y la válvula de ventilación de la cámara de residuos 2442B abierta hasta que el golpe de la muestra es detectado en el sensor 8 (fig. 26 paneles, 2607-2608). Los golpes de líquido de muestra se incuban en las cámaras de detección 45 para permitir que los constituyentes de la muestra (por ejemplo, reactivos de unión marcados, analitos, analitos de control, etc.) y reactivos de unión inmovilizados dentro de la cámara de detección se unan para formar enlaces complejos en la cámara de detección. Preferiblemente, se emplea una operación de mezclado para aumentar la tasa de estas reacciones de enlace. Preferiblemente, la mezcla se consigue moviendo los golpes de líquido hacia adelante y hacia atrás en la cámara de detección por un proceso análogo al descrito para la reconstitución de la 50 pastilla de reactivos (opcionalmente, utilizando los sensores 1, 2, 11 y 12 para proporcionar puntos de parada en cada sentido). Las operaciones de aspirado y de dispensación se repiten un número determinado de veces o hasta que se haya logrado/detectado el grado de mezcla requerido. Tras la finalización de la etapa de incubación, se utilizan las válvulas de ventilación de las cámaras de aire y de residuos para arrastrar los golpes de líquido de las cámaras de detección a las cámaras de residuos 2540A y B (fig. 26, paneles 2609-2610).

55 Preferiblemente (como se muestra), el proceso de ensayo incluye una etapa de lavado para eliminar la muestra y los reactivos marcados que no se hayan unido de la cámara de detección. El lavado utiliza un reactivo de lavado (preferiblemente, una solución tamponada, siendo más preferible que incluya un tensioactivo no iónico como el Triton X-100 y lo más preferible que incluya un co-reactivo EQL como TPA o PIPES) que se almacenan en la cámara de reactivos A 2530A. Si el reactivo de lavado se encuentra en un módulo de reactivo (preferiblemente una ampolla) y todavía no está roto, se rompe ahora. Opcionalmente, se encamina el resto del líquido de muestra en primer lugar de nuevo a la cámara de muestras para evitar la contaminación del reactivo de lavado: El primer reactivo de lavado se extrae de la cámara de reactivos A 2530A a una de las ramificaciones del conducto de muestras accionando la bomba para aplicar una presión negativa con la válvula de ventilación de la cámara de reactivos 2432A y la correspondiente válvula de ventilación de la cámara de residuos 2442A o B abiertas (y, preferiblemente, superando una ruptura capilar proporcionada por un perfil adaptador en Z en el conducto de

reactivo); entonces se extrae el exceso de la muestra a la cámara de muestras accionando la bomba para aplicar presión positiva a la válvula de la cámara de residuos con la válvula de ventilación de la cámara de muestras abierta (fig. 26, paneles 2611-26120. El reactivo de lavado se extrae entonces desde la cámara de reactivos A 2530A, por las cámaras de detección 2550A y 2550B a las cámaras de residuos 2540A y 2540B accionando la bomba con la válvula de ventilación de la cámara de reactivos A 2432A y las válvulas de ventilación de las cámaras de residuos 2442A y/o 2442B (de forma simultánea o secuencial) abiertas (fig. 26 paneles, 2613-1616). Como se muestra en formas de realización especialmente preferidas, el líquido de lavado puede estar segmentado, es decir, interrumpido por uno o varios golpes de aire. Se ha observado que si se alterna el líquido de lavado con aire dentro de las cámaras de detección, aumenta la eficacia del ciclo de limpieza. La segmentación del líquido de lavado puede realizarse de manera periódica y temporal mediante la apertura de la válvula de ventilación de aire 2422 y cerrando, simultáneamente, la válvula de ventilación de la cámara de reactivos 2432A para que el aire entre en el conducto de muestras. La temporización y duración de estas operaciones determinan el tamaño y la frecuencia de los golpes de aire introducidos en el golpe segmentado del líquido de lavado.

En el formato de dos etapas, es posible incubar uno o varios reactivos de detección marcados en la cámara de detección en una etapa de incubación adicional. Preferiblemente, se prepara solución con el reactivo de detección mediante la reconstitución de una pastilla de reactivos seca que consta de los reactivos de detección con un diluyente del ensayo que se encuentra dentro de la cámara de reactivo B 2530B. Si el diluyente de ensayo se encuentra en un módulo de reactivo (preferiblemente una ampolla) y todavía no está roto, se rompe ahora. El diluyente del ensayo se introduce en el conducto de reactivo alargado 2535 mediante aspiración en uno de los orificios de la cámara de residuos mientras se abre la válvula del respiradero de la cámara de reactivos B 2432B hasta que el diluyente alcance el sensor 13 (fig. 26 panel 2617). Se prepara un volumen definido del diluyente de ensayo cerrando la válvula de ventilación de la cámara de reactivos B 2432B y abriendo la válvula de ventilación 2422 y continuando la aspiración en el orificio de la cámara de residuos; la reconstitución del reactivo seco en el conducto de reactivo alargado se promueve alternando la bomba entre la presión positiva y la negativa con el fin de mover el golpe hacia adelante y hacia atrás sobre la pastilla de reactivos seca (fig. 26 panel, 2618-2619). En un proceso similar a la introducción de la muestra a las cámaras de detección, el golpe de líquido de la solución del reactivo de detección es i) distribuido entre las ramificaciones del conducto de muestras 2515 A y B, ii) introducido en las cámaras de detección (2550 A y B), incubado en las cámaras de detección mientras se mueven los golpes hacia adelante y hacia atrás en las cámaras para aumentar la tasa de unión de los reactivos de detección a los componentes del ensayo inmovilizados en las cámaras, y iii) expulsado desde las cámaras de detección hacia las cámaras de residuos 2540 A y B (fig. 26 paneles, 2620-2622). Opcionalmente, se lava la solución residual de reactivo de detección de las cámaras de detección 2550A y B mediante aspirado en los orificios de la cámara de residuos con la válvula del orificio de la cámara de reactivos B 2432B abierta (y, preferiblemente, alternando la apertura del orificio de la cámara de reactivos B 2432B y la válvula de ventilación 2422 con el fin de segmentar el flujo de líquido) y luego manteniendo la válvula de ventilación 2422 abierta para sacar el exceso de diluyente a las cámaras de residuos (fig. 26 paneles, 2623-2625). Alternativamente, puede realizarse el lavado con el reactivo de lavado repitiendo las etapas en los paneles 2613-2616.

Para proporcionar un entorno adecuado para la medición de EQL, se llenan las cámaras de detección 2550A y 2550B con el reactivo de lavado (que preferiblemente, es una solución amortiguadora de lectura de EQL que contiene un co-reactivo de EQL). Por lo tanto, se introduce el reactivo de lavado en las cámaras de detección accionando la bomba con la válvula de ventilación de la cámara de reactivos A 2432A y las válvulas de ventilación de las cámaras de residuos 2442A y/o 2442B abiertas para aspirar el reactivo de lavado hacia las ramificaciones de los conductos de muestra 2515A y 2515B. El funcionamiento de la bomba con la válvula de ventilación 2422 y las válvulas de las cámaras de residuos 2442A o 2442B abiertas introduce golpes de líquido de lavado en las cámaras de detección (fig. 16 paneles, 2628-2631). El ensayo descrito anteriormente es para un ensayo en dos etapas que emplea dos etapas de unión. Puede utilizarse un protocolo análogo en un protocolo de una sola etapa con una etapa de unión, preferiblemente, omitiendo los pasos que se indican en la fig. 26 paneles, 2617-2625. En el formato de una sola etapa, todos los reactivos de detección que se utilizan en el ensayo, se almacenan, preferiblemente, como reactivos secos en las ramificaciones del conducto de muestras 2515A y 2515B para que se reconstituyan durante el paso de la muestra por esas ramificaciones. Opcionalmente, puede omitirse la cámara de reactivos B 2530B.

Preferiblemente se realiza una medición de EQL mediante estímulo/disparo de los electrodos de trabajo en la cámara de detección. Preferiblemente, los reactivos de unión inmovilizados de las cámaras de detección están inmovilizados en uno o varios grupos de electrodos de trabajo, preferiblemente en un conjunto de electrodos, más preferiblemente en un conjunto de electrodos configurado para ser disparados por pares (como se describió anteriormente). El potencial eléctrico es aplicado a los electrodos para estimular la EQL, preferiblemente por pares como de abordó anteriormente. La luz generada de esta forma se detecta mediante un detector óptico, utilizando, por ejemplo, un fotodiodo o algo similar. El cartucho y/o el fotodetector puede desplazarse durante el proceso de disparo por pares, con el fin de alinear el electrodo activo con el fotodetector. Opcionalmente, se utiliza un conjunto de fotodetectores o un fotodetector suficientemente grande para que no sea necesario el movimiento de los cartuchos y/o el fotodetector. Pueden utilizarse parámetros de conversión predefinidos y específicos del ensayo para obtener las concentraciones/resultados de la medida de los recuentos de EQL; por ejemplo, derivados empíricamente de los datos de la prueba o calculados a partir de predicciones y modelos teóricos. En formas de realización especialmente preferidas, diferentes tipos de cartuchos pueden tener diferentes patrones de electrodo,

pero emplearían preferiblemente un patrón/área de contacto del electrodo del cartucho común. Algunos de los contactos de los electrodos no pueden utilizarse para formatos de cartucho de menor densidad.

A continuación, se describirá una secuencia de operaciones preferida que puede emplear una forma de realización del lector de cartuchos para disparar cada ubicación de lectura. La exposición hará referencia a un fotodiodo como el detector óptico pero debe entenderse que es posible emplear cualquier detector óptico adecuado conocido en la materia. Se coloca el conjunto de fotodiodos (o, alternativamente, el cartucho) en su posición, por ejemplo, en el lado correspondiente de la matriz de electrodos del cartucho. Luego se coloca el cartucho de manera que la primera ubicación de lectura que va a ser procesada se encuentre en una determinada posición de alineación con el fotodiodo (p. ej., colocado en el alineamiento registrado) y se establece el contacto eléctrico con los contactos del electrodo. Una vez realizado el contacto, el lector realiza, preferiblemente, una medición de diagnóstico para detectar posibles anomalías que puedan interferir con el funcionamiento correcto de la matriz de electrodos y/o sus componentes (cables, contactos, electrodos, etc.). Las anomalías que se detectan preferiblemente incluyen defectos de fabricación, burbujas en la superficie, o similares. Esta medición de diagnóstico se puede lograr aplicando preferiblemente una tensión de CA de 500 Hz o un voltaje muy bajo (por ejemplo, inferior a 100 mV), una señal de CC de baja corriente (por ejemplo, inferior a 1 μ A) a los electrodos y midiendo la capacitancia de la superficie. Podría utilizarse un determinado algoritmo apropiado para determinar la presencia y/o el efecto de dichas anomalías; por ejemplo, comparar la señal medida con umbrales fijos, o similares. Preferiblemente, si se detectan anomalías, el lector de cartuchos podría registrar el error y proceder en consecuencia; por ejemplo, si la anomalía se limita a un electrodo/par de electrodos en particular, el lector de cartuchos podría dejar de leer esta ubicación y proceder al siguiente par y/o a la operación siguiente. Tras confirmar el estado operacional, se inicia la EQL desde el primer par de electrodos mediante la aplicación de una onda de tensión; también se ha iniciado la adquisición de datos del fotodetector. Despues de terminar la medición de EQL, se alinea de nuevo el cartucho/fotodetector para medir la EQL desde el segundo par de electrodos y se repite el proceso de inducción/medición de EQL. El ciclo se repite para todos los pares de electrodos que vayan a analizarse.

En ciertas formas de realización preferidas, una vez que se haya adquirido una serie completa de puntos de datos, el lector de cartuchos puede almacenar los datos adquiridos para su recuperación/inspección posterior, preferiblemente en un medio de almacenamiento legible por la máquina, y concluir el ciclo de lectura mediante la realización de los pasos necesarios de finalización (detallados más abajo) o realizar un posprocesamiento, preferiblemente en tiempo real, de los datos adquiridos y almacenar los datos posprocesados o bien solos o en combinación con los datos primarios adquiridos. Ya que cuando los datos se almacenan únicamente en un formato posprocesado a menudo es importante inspeccionar los datos primarios (por ejemplo, solución de problemas, diagnóstico, limpieza/filtrado de datos, y similares), por lo que es posible almacenar los correspondientes parámetros que se utilizaron en la conversión de los datos para sea posible calcular/determinar los datos adquiridos según sea necesario. Alternativamente, pueden almacenarse tanto los datos primarios adquiridos como los datos posprocesados. Aún más, los datos primarios adquiridos pueden solamente ser sometidos a un subconjunto de operaciones predeterminadas conversión/análisis de datos en tiempo real y almacenados para un procesamiento posterior, sin conexión, es decir, no en tiempo real; el posprocesamiento puede realizarse por el propio lector de cartuchos u otro dispositivo, por ejemplo, un ordenador programable de propósito general.

En ciertas formas de realización preferidas que emplean la tecnología de detección de EQL, las operaciones de conversión/análisis de datos pueden incluir una o varias de las siguientes opciones: la sustracción de fondo; la conversión a los recuentos de EQL; la conversión de recuentos de EQL a la concentración; y/o la realización de controles de calidad de los datos adquiridos. Dado que es preferible que el conjunto de datos resultantes represente sólo la luz generada por la EQL, se emplea la sustracción de fondo para ajustar la luz medida y corregir la influencia de la luz ambiente o señal de «fondo». La sustracción de fondo consiste en restar la señal de fondo de la señal del fotodiodo.

Los recuentos de EQL se convierten preferiblemente en concentraciones utilizando parámetros de calibración predeterminados; los parámetros de calibración pueden depender de uno o varios factores, por ejemplo, el ensayo particular/formato del ensayo que debe realizarse dentro del cartucho, los reactivos de ensayo que se emplean, la tecnología de detección/técnicas empleadas, la configuración del cartucho, y similares. Preferiblemente, los parámetros de calibración se determinan a partir de los indicios legibles por máquina asociados con el cartucho, por ejemplo, un código de barras adherido o inscrito en el cuerpo del cartucho. Debe reconocerse que la conversión a recuentos de EQL puede producirse de varias maneras diferentes, incluyendo, la conversión de todos los puntos de datos adquiridos después de la adquisición de todos los datos, la conversión de cada punto de datos adquirido de forma individual, a medida que se adquieren, grupos/agrupaciones de puntos de datos adquiridos (por ejemplo, si el cartucho emplea un diseño de doble cámara de lectura, después de la adquisición de datos se realiza la conversión en recuentos de EQL para cada cámara de lectura), etc.

En ciertas formas de realización preferidas es preferible realizar comprobaciones de calidad, es decir, evaluar la calidad de los datos adquiridos. Cuando se emplea la tecnología de detección EQL, pueden realizarse comprobaciones de calidad convenientes en la adquisición de datos de tensión y corriente, incluyendo: La detección de cortocircuito; la detección de circuito abierto; tensión tras la confirmación; y detección de corriente de pico. Para la detección de circuitos abiertos y cortocircuitos, es preferible integrar la tensión de salida y la corriente

- monitorizada para cada punto de datos adquirido y la relación de estos dos valores (la corriente respecto a la tensión aplicada) puede compararse luego con valores de umbral; estos valores de umbral pueden ser dependientes del ensayo. Los resultados con muy baja corriente relativa están preferiblemente marcados como posibles condiciones de circuito abierto mientras los resultados con una corriente relativa muy alta son preferiblemente marcados como posibles cortocircuitos. Esta información puede almacenarse en un formato relacional para su posterior revisión y examen. Alternativamente, si se detecta alguna de estas condiciones, los resultados pueden ser considerados nulos y no se comunican/registran las concentraciones de esas mediciones.
- En los casos en los que hay que emplear una tensión tras la evaluación de la calidad, preferiblemente se compara cada punto de la onda del voltaje adquirida con su punto correspondiente en un muestreo de formas de onda de salida. Preferiblemente, se define para el instrumento un límite seguidor de tensión predeterminado (es decir, lector de cartuchos/cartucho) y si cualquier pareja de puntos difiere en más que el valor predeterminado (es decir, $|v(t)_{\text{definido}} - v(t)_{\text{medido}}| <$ tensión siguiente al límite), los resultados son preferiblemente marcados o se consideran no válidos. Si los resultados son marcados, es posible almacenar esta información en formato relacional para una revisión/consideración posterior. Si los resultados se consideran nulos, los resultados calculados para aquellos puntos de datos preferiblemente no se comunican/registran.
- La finalización de la operación de lectura del cartucho puede suceder una vez que se hayan efectuado todas las mediciones necesarias y que se hayan producido todos los procesamientos necesarios de los líquidos (por ejemplo, una vez que las mediciones finales hayan sido realizadas, se haya encaminado todo el líquido restante dentro de los canales y/o cámaras de lectura hacia las cámaras de residuos), y el cartucho pueda ser expulsado del lector. La operación de expulsión del cartucho se produce preferiblemente de forma inversa a la operación que se usa para arrastrar el cartucho hacia dentro del lector. Específicamente, el controlador del lector de cartuchos asegura que el respiradero de la bomba esté abierto y que todas las demás válvulas estén cerradas. Se obtiene la confirmación de que la bomba se ha detenido y que todos los contactos del electrodo pasan a triestado y, si hay un calefactor para cartuchos y se emplea, se desactiva el calefactor del cartucho. El cartucho entonces se retira preferiblemente a la bandeja del lector, y se expulsa la bandeja del lector dejando el cartucho externo al lector y listo para que el usuario, u opcionalmente un sistema automatizado, retire el cartucho de la bandeja y lo deseche adecuadamente.
- A continuación, se describe una forma de realización preferida de la ejecución de un ensayo que utiliza el cartucho 3200, donde la descripción se centra en aspectos que difieren de las etapas de funcionamiento descritas para el cartucho 2500. La descripción operacional incluye el uso de una configuración de válvula preferida en el lector de cartuchos que es similar a la que se describe en la figura 24, excepto que está configurada de modo que el puerto de ventilación de aire 3244 y el orificio de ventilación del colector de burbujas 3266 pueden estar conectados a la bomba, estar sellados o tener salida a la atmósfera. En vista de la descripción operacional proporcionada para el cartucho 2500, las operaciones básicas que se utilizan para mover el líquido en esta forma de realización preferida (es decir, la apertura de puertos de ventilación en uno de los lados del líquido que se mueve al aire y la aplicación de una presión positiva o negativa a un orificio de ventilación en el otro lado del líquido) serán evidentes y no siempre están descritas.
- Una muestra, preferiblemente una muestra compuesta por y/o recogida en una matriz sólida, es insertada en la cámara de muestras 3220 y se cierra la tapa 3297. En una forma de realización especialmente preferida, la muestra (preferiblemente una muestra del aparato respiratorio superior y/o una muestra de la que se sospecha que contenga una cepa de estreptococo) fue recolectada sobre una varilla aplicadora (preferiblemente un hisopo), constando la varilla aplicadora preferiblemente de un punto débil previamente definido y siendo la cámara de muestras curva, como se muestra en la figura 33. En esta forma de realización especialmente preferida, la inserción de la varilla en la cámara curva provoca que el eje se rompa. El segmento del eje es entonces, preferiblemente, eliminado y el segmento del cabezal está sellado en la cámara por la tapa de cierre 3297.
- Se inserta el cartucho en un lector y se acopla a las conexiones de fluidos y a las conexiones eléctricas apropiadas como se describió anteriormente para el cartucho 2500. El cartucho alberga preferiblemente ampollas de extracción y solución amortiguadora de lavado en, respectivamente, las cámaras de reactivo 3210 y 3240 que preferiblemente se rompen ahora (o alternativamente en cualquier momento antes de que sean necesarias). Se saca el reactivo de extracción (preferiblemente, ácido nitroso, más preferiblemente, ácido nitroso preparado a partir de un ácido líquido en una ampolla de reactivo y una sal de nitrato seco presente fuera de la ampolla en la cámara 3210) de su cámara de reactivos 3210 abriendo el puerto de ventilación 3212 al aire, el puerto de ventilación 3244 o 3264 a la bomba, y accionando la bomba para sacar el reactivo de extracción mediante el hisopo. Para eliminar burbujas en la muestra, se acciona la bomba hasta que se detecta en la posición n.º1 del sensor el líquido del hisopo. El líquido es entonces empujado hacia el colector de burbujas 3226 mediante la apertura del puerto de ventilación 3266 al aire y accionando la bomba para aplicar presión positiva en el puerto de ventilación 3244 o 3264 (o a la inversa, es decir, aplicando una presión negativa en el puerto de ventilación 3266 y abriendo el puerto de ventilación 3244 o 3264 al aire). En el colector de burbujas 3226, las burbujas suben a la parte superior de la trampa dejando el líquido exento de burbujas en la parte inferior del colector. Se arrastra más líquido desde el hisopo al sensor n.º1 y se empuja de nuevo al colector de burbujas. Este proceso se repite tantas veces como sea necesario para asegurar que se recoja suficiente líquido exento de burbujas en el colector de burbujas para realizar el ensayo.

Luego se extrae el líquido de la muestra exento de burbujas de la parte inferior del colector de burbujas 3226 (mediante la aspiración desde el puerto de ventilación 3244 o 3264 o con el puerto de ventilación 3266 abierto al aire) hasta que el frente del líquido alcance el sensor n.º1. El puerto de ventilación 3266 está cerrado y el puerto de ventilación 3262 está abierto al aire y el golpe de la muestra definido es arrastrado hacia adelante, tirando del aire

5 tras el mismo desde el puerto de ventilación 3262. Este proceso mide con precisión un volumen definido del líquido de la muestra. Luego se arrastra el golpe de la muestra a través del reactivo de ensayo seco 3225 para disolverlo. Este reactivo preferiblemente incluye amortiguadores, reactivos de unión marcados (preferiblemente anticuerpos) para los ensayos, reactivos estabilizantes, y/o otros aditivos tales como reactivos de bloqueo. Para los ensayos que emplean ácido nítrico como reactivo de extracción, el reactivo de ensayo seco preferiblemente incluye suficiente base (preferiblemente, la base de una solución amortiguadora de pH, como Tris, Hepes, fosfato, PIPES, etc.) para llevar el pH de la muestra a 4-10, más preferiblemente entre 5-9, más preferiblemente entre 6-8. Los reactivos disueltos pueden mezclarse con la muestra moviendo la muestra hacia adelante y hacia atrás en la línea de líquido, utilizando sensores para asegurarse de que el líquido permanece dentro de una región definida del conducto.

10 15 La muestra que contiene los reactivos de ensayo reconstituidos se introduce en la cámara de detección 3230, donde los agentes de unión inmovilizados (preferiblemente anticuerpos) están presentes en las zonas de enlace individuales que, preferiblemente, están ubicadas en los electrodos en una matriz de electrodos. La muestra se incuba durante un periodo de tiempo específico sobre las zonas de enlace, ya sea en modo estático o en mezcla, y durante ese tiempo el analito y el reactivo de unión marcado pueden unirse el uno al otro y/o a las zonas de enlace individuales. La mezcla se realiza moviendo la muestra hacia atrás y adelante entre los sensores al final de la cámara de lectura.

20 25 En algún momento antes, durante o después de la incubación de la muestra, también se lleva a cabo un ensayo de control positivo en la otra cámara de enlace: la solución amortiguadora de lavado se lleva desde la cámara de almacenamiento de solución amortiguadora de lavado 3240 al sensor n.º2 aplicando vacío sobre el puerto de ventilación 3264 con el orificio de ventilación 3241 abierto al aire. Se mide un golpe de líquido mediante el cierre del puerto de ventilación 3241 y la apertura del puerto de ventilación 3244 para introducir aire detrás del líquido medido a medida que es arrastrado hacia la cámara de detección de control 3250. Luego se lleva el golpe de líquido dosificado sobre los reactivos de control secos 3252 y se disuelven. Estos reactivos incluyen preferiblemente 30 reactivos de unión marcados (preferiblemente anticuerpos), cantidades determinadas de los analitos para los ensayos (para proporcionar controles positivos), reactivos de estabilización y/u otros reactivos de ensayo. La muestra de control positiva, que incluye el golpe de la solución amortiguadora de lavado dosificado y los reactivos de control rehidratados, se incuba luego en la cámara de detección de control 3250, ya sea en una forma estática o mezcla, moviendo la muestra entre los sensores situados en el extremo de la zona de enlace de control.

35 40 45 Tras las etapas de incubación, se lleva la muestra de control positivo a la cámara de residuos 3254, y la muestra extraída del hisopo se lleva a la cámara de residuos 3228. Ambas cámaras de detección se lavan de forma consecutiva o simultánea, arrastrando la solución amortiguadora de lavado de la cámara de solución amortiguadora de lavado 3240 a través de las cámaras de detección a sus respectivas cámaras de residuos (la cámara de residuos 3228 para la cámara de detección 3230 y la cámara de residuos 3254 para la cámara de detección de control 3250). El reactivo de lavado que se utiliza durante la etapa de lavado es preferiblemente segmentado mediante la introducción de aire en el puerto de ventilación 3244. Después del lavado, se rellenan tanto las zonas de enlace de control como las de la muestra con solución amortiguadora de lavado para completar la secuencia de líquidos. Ventajosamente, el reactivo de lavado fluye a través de la cámara de detección 3230 en dirección opuesta a aquella en la que se introdujo en la cámara de muestras 3230. Este lavado de flujo inverso asegura la eliminación eficaz de los componentes de la muestra y/o de la solución amortiguadora de extracción que podrían interferir con una medición en la cámara de detección.

50 55 Preferiblemente, se mide el enlace del analito y/o de los reactivos de unión marcados a dominios de unión en las cámaras de detección mediante una medición de EQL como se describió anteriormente para el cartucho 2500. La EQL se inicia aplicando los potenciales eléctricos requeridos a los electrodos que apoyan las zonas de enlace. Las zonas de enlace de control positivo en la cámara de detección 3250 proporcionarán una señal positiva para cada ensayo y pueden utilizarse para ofrecer garantías de que los reactivos de ensayo dentro del cartucho no se han degradado. La señal EQL desde cualquiera de las zonas de enlace de la muestra en la cámara de detección 3230 indica la presencia de un analito que se une a esa zona de captura o compite con el enlace de un reactivo marcado a esa zona de captura.

60 65 A continuación, se describe una forma de realización preferida de la ejecución de un ensayo que utiliza el cartucho 3700 y el lector 4300 donde la descripción se centra en aspectos que difieren de las etapas de funcionamiento descritas anteriormente para otras formas de realización del cartucho y del lector. La descripción operacional incluye el uso de una configuración de válvula preferida que se muestra en la figura 37. Las operaciones básicas que se usan para mover el líquido en esta forma de realización preferida (es decir, la apertura de los puertos de ventilación en uno de los lados del líquido que se mueve con el aire y la aplicación de presión positiva o negativa a un orificio de ventilación en el otro lado del líquido) será evidente y no se describirá siempre. Durante el funcionamiento, el instrumento efectúa un control continuo para asegurarse de que los frentes del líquido pasan por los sensores ópticos convenientes y no pasan por los sensores de protección en los puertos de ventilación. En caso de detectar

movimientos de líquido inadecuados, el instrumento puede detener el procesamiento de un cartucho o implementar acciones correctivas.

Se recoge una muestra en un hisopo con un punto débil predefinido (como se ha descrito anteriormente en el texto), y se inserta en la cámara de muestras 3720. Durante la inserción en la cámara curva, se rompe el cabezal del hisopo y es retenido por los elementos de retención 3721a y 3721b según se retira el eje del hisopo. A continuación, se cierra la tapa del cartucho. Si los parámetros específicos de lote para el lote de cartuchos no están almacenados en el instrumento, el usuario puede descargarlos al instrumento a través de su interfaz de red o mediante la conexión de un dispositivo de memoria externo (EEPROM, chip de memoria, RFID, códigos de barras, etc.).

Alternativamente, se almacenan estos ajustes en una memoria conectada al cartucho. El usuario puede introducir información sobre el paciente y el operador en la IGU del lector si lo desea y, a continuación, inserta el cartucho dentro de la bandeja de cartuchos 4320 hasta que quede trabado en su lugar con el pestillo 4420 (como se muestra en la fig. 44). A través de la IGU, el usuario da al lector órdenes de iniciar el procesamiento, y la bandeja del cartucho se arrastra al lector y se alinea con los subcomponentes de los lectores para el procesamiento del cartucho (como se describe en la fig. 43 y la descripción en el texto asociado) que incluye el acoplamiento del cartucho a las conexiones eléctricas y de fluidos.

Una vez que el cartucho está correctamente colocado, el lector utiliza el conjunto para la ruptura de ampollas 4200 para romper la ampolla de la solución amortiguadora de extracción (que en el caso de un panel de tipado/subtipado de la gripe es, preferiblemente, una solución amortiguadora de un pH bajo como se ha descrito anteriormente). La bomba se usa para aspirar el aire de la cámara de reactivos de extracción a través de la cámara de muestras al componente de recolección 3726 hasta que el líquido alcance el sensor óptico del componente de recolección que indica que el volumen correcto de la muestra extraída ha sido recogido (se describe en mayor detalle en la fig. 38 y en la correspondiente descripción). Opcionalmente, el proceso de extracción puede usar un flujo de aire segmentado de la solución amortiguadora de extracción alternando entre la aspiración del respiradero de la cámara de la solución amortiguadora de extracción y el puerto de ventilación de aire.

La muestra entra dosificada en los canales de la celda de flujo del ensayo mediante la aplicación de presión en el orificio del componente de recolección y conectando las salidas de residuos a la izquierda o derecha al ambiente (para medir en los canales izquierdos o derechos) hasta que los frentes de la muestra alcancen los sensores ópticos 2a y 2b en los dos canales (como se enumera en la fig. 37(b)). El aire es aspirado al respiradero de la cámara de colección desde el puerto de ventilación de aire para finalizar el proceso de medición. Entonces se extrae el aire del puerto de ventilación de aire hacia el respiradero de la cámara de residuos hasta que el frente de líquido alcance el sensor 4a. Entonces se extrae el aire del puerto de ventilación de aire hacia el respiradero de la cámara de residuos izquierda hasta que el frente de líquido alcance el sensor 4b. Como se muestra en la fig. 37(b), los sensores 2a y 2b se encuentran en posiciones alternadas dentro de sus respectivos canales para compensar el volumen muerto en las intersecciones de fluidos 3728 y 3729; la cantidad de muestra que entra dosificada en los canales derecho e izquierdo es la misma (aunque, de manera opcional, se puede seleccionar la colocación de los sensores para dosificar volúmenes diferentes para las dos cámaras). Después de que se haya completado el proceso de separación de muestra, el aire es aspirado al respiradero de la cámara de recogida desde el puerto de ventilación de aire para eliminar la muestra que no se haya utilizado de las líneas de fluidos.

Las pastillas de reactivo seco en las cámaras de flujo izquierda y son rehidratadas mediante el movimiento hacia adelante y hacia atrás de los golpes de muestra, de modo que los frentes de líquido iniciales y finales se mueven entre los sensores 4a y 3a en el canal derecho (3730a) y 4b y 3b en el canal izquierdo (3730b). En el caso de inmunoensayos de una sola etapa, la pastilla seca puede contener anticuerpos marcados, en el caso específico de un panel de tipado/subtipado de la gripe, la pastilla seca puede contener una solución amortiguadora neutralizante para compensar el bajo pH de la solución amortiguadora de extracción.

Las cámaras derecha e izquierda de detección de EQL 3731a y 3731b se llenan con muestra arrastrando los respectivos golpes de líquido hasta que los bordes posteriores alcancen los sensores ópticos 5a y 5b. Los tapones se mueven en los canales hacia adelante y hacia atrás, de tal forma que los bordes posteriores se mueven entre los sensores 5a y 4a (derecha) y 5b y 4b (izquierda). Este proceso continúa durante el tiempo de incubación prescrito del ensayo para permitir que se produzcan reacciones de unión en los electrodos en los canales de detección. De manera opcional, se detiene el proceso de ciclado ocasionalmente y i), el aire se extrae desde el puerto de ventilación de aire al orificio del componente de recolección para prevenir cualquier absorción de líquido de los componentes de recolección y/o ii) el respiradero del reactivo de extracción se abre brevemente al ambiente para evitar la acumulación de presión en la cámara. Durante el movimiento hacia adelante y hacia atrás de los golpes de muestra, el sistema de control del lector puede supervisar el tiempo de ciclo y utilizar la distribución observada para ajustar la velocidad de la bomba para golpear a una velocidad de flujo de líquido especificada.

Al finalizar la fase de incubación, se lavan las muestras de las cámaras de detección por aspiración del puerto de aire a los respectivos puertos de residuos. Se utiliza un diseño de fluidos con zonas hidrodinámicas coincidentes para proporcionar un flujo de fluidos uniforme durante la eliminación de la muestra (véase la fig. 40 y el texto que lo acompaña). La ampolla del reactivo de lavado (que, en el caso de ensayos de EQL, preferiblemente también actúa como una solución amortiguadora de lectura EQL) se rompe entonces, y las líneas de líquido están cebadas con

reactivo de lavado sacando reactivo de lavado de la cámara de reactivos de lavado hacia la cámara de residuos hasta que los sensores ópticos 2a y 2b detectan los frentes de líquido. La solución amortiguadora de lavado se elimina entonces a través de las cámaras de detección mediante la aspiración de líquido hacia la cámara de residuos derecha desde el puerto de ventilación de aire y luego hacia la cámara de residuos izquierda. Para llevar a cabo un lavado segmentado por aire de una cámara de detección, se aspira el líquido hacia la cámara residuos respectiva alternando entre la apertura del orificio de la solución amortiguadora de lavado y el puerto de ventilación de aire al ambiente. Este golpe de lavado segmentado se genera hasta que el sensor 5a (cámara derecha) o 5b (cámara izquierda) detecta el frente del líquido. El golpe preparado con aire segmentado se saca entonces a través de la cámara de detección y se elimina mediante la aspiración hacia la cámara de residuos correspondiente al abrir el puerto de ventilación de aire a presión ambiente. Este proceso se repite un determinado número de veces (por ejemplo, dos veces) para cada cámara de detección.

Para llenar las cámaras de detección con solución amortiguadora de lavado/lectura para una medición de EQL, el frente del líquido de la solución amortiguadora de lavado se arrastra primero hacia atrás, en dirección a la cámara de la solución amortiguadora de lectura, durante la apertura del puerto de ventilación de aire al ambiente. Entonces se mide la solución amortiguadora de lavado mediante la aplicación de presión al respiradero de la cámara de solución amortiguadora de lavado y moviendo el líquido hacia las rejillas de ventilación de la cámara de residuos hasta que los sensores ópticos 2a y 2b detectan el frente del líquido. La cola del golpe de líquido es arrastrada al componente de recolección después de conectar el puerto de ventilación de aire al ambiente. El golpe de líquido en el canal derecho se mueve entonces a la cámara de detección derecha por aspirado hacia la cámara de residuos derecha, mientras se abre el puerto de ventilación de aire al ambiente hasta que el sensor óptico 5a detecta el borde posterior del golpe de líquido dosificado. El tapón en el canal izquierdo se mueve entonces a la cámara de detección izquierda por aspirado hacia la cámara de residuos derecha, mientras se abre el puerto de ventilación de aire al ambiente hasta que el sensor óptico 5b detecta el borde posterior del golpe de líquido dosificado. Opcionalmente, el sistema electrónico de control comprueba la presencia de burbujas en los golpes de líquido buscando cambios transitorios en la señal en los sensores ópticos 4a o 4b que son seguidos por un cambio similar en la señal en los sensores ópticos 5a o 5b, respectivamente, donde la sincronización de los cambios está en consonancia con el caudal de los golpes de líquido.

Una vez que se ha colocado la solución amortiguadora de lavado/lectura en las cámaras de detección, se lleva a cabo el análisis de EQL. El fotodiodo está alineado con un electrodo de ensayo en una de las dos cámaras de detección, se aplica al electrodo el potencial eléctrico apropiado (preferiblemente, utilizando un electrodo adyacente como el contraelectrodo), y se mide la EQL resultante. Mediante el traslado de la bandeja de cartuchos, es posible alinear cada uno de los electrodos de ensayo en la cámara con el fotodiodo y analizarlo de manera seriada. Preferiblemente, después de que se haya analizado cada uno de los electrodos, se utiliza como el contraelectrodo para analizar los electrodos adyacentes (como se describió anteriormente). Cuando se ha completado el análisis de uno de los canales, se pone el fotodiodo en alineación con el otro canal mediante el mecanismo de traslado del fotodiodo descrito en las figuras 45 y 46 y el texto que lo acompaña, se induce y se mide la EQL de los electrodos en el segundo canal tal como se ha descrito para el primer canal. Opcionalmente, una vez que el análisis de EQL se ha completado, se desplaza el fotodiodo a su posición original.

A continuación del análisis de EQL, los líquidos en los canales pueden ser aspirados hacia sus respectivas cámaras de residuos y la bandeja de cartuchos se despliega, permitiendo que el usuario retire el cartucho. Los resultados del ensayo se muestran en la interfaz gráfica de usuario (IGU) y también se pueden guardar en la memoria y/o transferirlos a una red o a un servidor. En una forma de realización, el cartucho contiene ensayos para i) la detección y tipado de la influenza (por ejemplo, ensayos de nucleoproteínas del virus de la influenza o proteínas de la matriz u otras proteínas que muestran un alto grado de conservación en un tipo de gripe), y ii) ensayos de los subtipos específicos (por ejemplo, ensayos de subtipos específicos de hemaglutinina específicos o neuramidinasa). Opcionalmente, los ensayos de tipado y de subtipado están separados en diferentes canales del cartucho. Las señales EQL que se generan son comparadas con los umbrales de ensayo (que pueden proporcionarse como parámetros específicos del lote) y la interfaz gráfica de usuario comunica las muestras con señales por encima de los umbrales como positivas para el respectivo tipo o subtipo de la influenza. En una forma de realización concreta, los ensayos son ensayos de subclasificación para los diferentes subtipos de hemaglutinina del virus de la influenza A y la IGU sólo comunica los resultados de la subclasificación si el resultado es positivo para el virus de la influenza A.

Los módulos de ensayo (preferiblemente, cartuchos de ensayo) pueden utilizarse para llevar a cabo una variedad de diferentes formatos de ensayo para la medición de los analitos de interés, preferiblemente formatos basados en mediciones de luminiscencia introducida por electrodos. Los ensayos comprenden, preferiblemente, los pasos de la introducción de una muestra y, opcionalmente, uno o varios reactivos de ensayo de fase líquida en una cámara de detección (preferiblemente una celda de flujo) que consta de uno o varios dominios de ensayo (preferiblemente una gama de dominios de ensayo) que constan de reactivos de ensayo inmovilizados que se unen (con al menos cierto grado de selectividad) con los analitos de interés. Preferiblemente, hay al menos dos dominios de ensayo que incluyen reactivos de unión inmovilizados que difieren en su selectividad por los analitos. Preferiblemente, hay una matriz estructurada de reactivos de unión inmovilizados. La cámara de detección consta, preferiblemente, de una gama de electrodos, incluyendo uno o varios electrodos de trabajo con dominios de ensayo. En esos casos, se aplica energía eléctrica a los electrodos (p. ej., en un modo por pares como se describió anteriormente) para inducir

una señal dependiente del ensayo (por ejemplo, una señal electroquímica como una corriente o un potencial o, preferiblemente, una señal de luminiscencia inducida por electrodo, siendo lo más preferible una señal de electroquimioluminiscencia) en los electrodos que depende de las cantidades de los analitos presentes en la muestra. La señal dependiente del ensayo se mide para determinar las cantidades de los analitos de interés. Los ensayos pueden incluir la etapa de lavado de los electrodos con una solución de lavado o pueden llevarse a cabo en un formato sin lavar. En ensayos de electroquimioluminiscencia con lavados, el ensayo incluye, preferiblemente, la etapa de lavado de los electrodos con una solución compuesta por un co-reactivo de electroquimioluminiscencia (p. ej., una alquilamina terciaria como la tripropilamina o PIPES; para consultar otros ejemplos de co-reactivos adecuados, véase la solicitud de patente estadounidense co-pendiente n.º 10/238,437 presentada el 10 de septiembre de 2002) y la inducción de EQL en presencia del co-reactivo. En ensayos de EQL sin lavados, se introduce, preferiblemente, un co-reactivo en la cámara de detección junto con la muestra, o el co-reactivo está presente en la cámara de detección antes de la introducción de la muestra. Ventajosamente, pueden utilizarse los módulos de ensayo compuestos por una gama de dominios de ensayo, preferiblemente en una gama de electrodos para realizar ensayos de una gama de analitos de interés.

En formas de realización preferidas, se utilizan los módulos de ensayo (preferiblemente, cartuchos de ensayo) para llevar a cabo ensayos de unión, siendo lo más preferible análisis de enlace competitivos o tipo sándwich, preferiblemente inmunoensayos competitivos o tipo sándwich. Estos ensayos pueden incluir, de manera opcional, la etapa de la introducción de reactivos de unión marcados a la cámara de detección, como un componente de enlace marcado del analito de interés o un competidor marcado que compite con el analito de interés por un componente de enlace del analito de interés. Alternativamente, es posible almacenar estos reactivos en forma húmeda o seca en la cámara de detección. Para obtener más información sobre la realización de ensayos de unión, particularmente mediante la detección basada en electroquimioluminiscencia, consulte la solicitud de patente estadounidense co-pendiente US 10/185,274, presentada el 28 de junio de 2002 y la solicitud de patente estadounidense co-pendiente US 10/238,391, presentada el 10 de septiembre de 2002.

Los módulos de ensayo (preferiblemente, los cartuchos de ensayo) pueden utilizarse para llevar a cabo grupos de ensayos. Los grupos adecuados de ensayos incluyen grupos de ensayos para analitos o actividades asociadas con un determinado sistema bioquímico, vía bioquímica, tejido, organismo, tipo celular, orgánulos, estado de la enfermedad, clase de receptores, clase de enzimas, clase de patógeno, muestras ambientales, muestra de alimentos, etc. Los grupos preferidos incluyen inmunoensayos para citoquinas y/o sus receptores (por ejemplo, uno o varios de entre TNF- α , TNF- β , IL1- α , IL1- β , IL2, IL4, IL6, IL10, IL12, IFN- γ , etc.), factores de crecimiento y/o de sus receptores (p. ej., uno o varios de entre EGF, VGF, TGF, VEGF, etc.), segundos mensajeros (por ejemplo, el AMPc, GMPc, formas fosforiladas de inositol y fosfatidilinositol etc.), drogas, drogas terapéuticas, autoanticuerpos (por ej., uno o varios anticuerpos dirigidos contra los antígenos Sm, la RNP, SS-A y SS-B Jo-1 y Scl-70), anticuerpos específicos contra alergenos, marcadores tumorales, marcadores cardíacos (p. ej., uno o varios de entre troponina T, troponina I, mioglobina, CKMB, etc.), marcadores asociados con la hemostasia (por ejemplo, uno o varios monómeros de fibrina, el dímero-D, el complejo trombina-antitrombina, los fragmentos de protrombina 1 y 2, anti-factor Xa, etc.), marcadores de infección agudo por el virus de la hepatitis (p. ej., uno o varios anticuerpos de tipo IgM contra el virus de la hepatitis A, anticuerpo de tipo IgM contra el antígeno del core del virus de la hepatitis B, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, anticuerpos contra el virus de la hepatitis C, etc.), marcadores de la enfermedad de Alzheimer (β -amiloide, proteínas tau, etc.), marcadores de la osteoporosis (por ej., uno o varios telopeptídos entrecruzados C-terminal o N-terminal, deoxipiridinolina total, deoxipiridinolina libre, fosfatasa alcalina, osteocalcina, propéptido C terminal del colágeno de tipo I, fosfatasa alcalina específica de hueso, etc.), marcadores de fecundidad (por ej., uno o varios de entre estradiol, progesterona, hormona foliculoestimulante (FSH, por sus siglas en inglés), hormona luteinizante (HL), prolactina, GCh β , testosterona, etc.), marcadores de insuficiencia cardíaca congestiva (p. ej., uno o varios de entre péptido natriurético tipo β (PNB), péptido natriurético auricular (PNA), endotelina, aldosterona, etc.), marcadores de trastornos de la tiroídes (por ejemplo, uno o varios de entre la hormona estimulante de la tiroídes (TSH, por sus siglas en inglés), T3 total, T3 libre, T4 total, T4 libre y T3 inversa), y marcadores de cáncer de próstata (por ej., uno o varios de entre APE total, APE libre, complejo APE, fosfatasa ácida prostática, creatina cinasa, etc.), los patógenos asociados a infecciones del tracto respiratorio superior (por ejemplo, la gripe A, gripe B, el virus sincicial respiratorio, especies de estreptococos), agentes patógenos que se encuentran en los alimentos y el agua (por ejemplo, la salmonela, listeria, Cryptosporidium, Campylobacter, E. coli 0157, etc.), enfermedades de transmisión sexual (por ejemplo, VIH, sífilis, herpes, gonorrea, VPH, etc.), agentes patógenos de transmisión sanguínea y potenciales agentes de bioterrorismo (p. ej., los agentes patógenos y toxinas de listas de los agentes A, B y C de los CDC, agentes como el B. anthracis, Y. pestis, el virus de la viruela, F. tularensis, el ricino, toxinas botulínicas, enterotoxinas estafilococicas, etc.), los paneles preferidos también incluyen matrices de ácido nucleico para medir los niveles de ARNm del ARNm codificador de citocinas, factores de crecimiento, componentes de la vía de la apoptosis, la expresión de las enzimas del citocromo P450, la expresión de genes relacionados con tumores, agentes patógenos (por ejemplo, los agentes patógenos enumerados anteriormente), etc. Los paneles preferidos también incluyen matrices de ácidos nucleicos para la genotipificación de personas (p. ej., análisis de PNS), agentes patógenos, células tumorales, etc. Los paneles preferidos también incluyen bibliotecas de enzimas y/o sustratos enzimáticos (p. ej., sustratos y/o enzimas asociadas con la ubiquitinación, actividad proteasa, actividad cinasa, actividad fosfatasa, actividad de procesamiento de ácidos nucleicos, actividad GTPasa, actividad de intercambio de nucleótidos guanina, actividad de activación de la GTPasa, etc.). Los paneles preferidos también incluyen las bibliotecas de receptores o ligandos (por ejemplo, paneles de receptores acoplados a las proteínas G,

receptores tirosina-cinasa, los receptores hormonales nucleares, moléculas de adhesión celular, integrinas, VCAM, CD4, CD8), proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad, los receptores nicotínicos, etc.). Los paneles preferidos también incluyen bibliotecas de células, membranas celulares, fragmentos de membrana, membranas reconstituidas, orgánulos, etc., procedentes de diferentes fuentes (por ejemplo, procedentes de diferentes tipos celulares, líneas celulares, tejidos y organismos, estados de activación, etc.).

La presente descripción también incluye kits. Los kits pueden incluir los componentes desmontados necesarios para generar un módulo de ensayo. Alternativamente, los kits pueden incluir, en uno o varios contenedores, un módulo de ensayo y de al menos un reactivo de ensayo adicional necesario para llevar a cabo un ensayo. Ese o esos reactivos de ensayo pueden incluir, pero no están limitados a reactivos de unión (preferiblemente, reactivos de unión marcados, más preferiblemente reactivos de unión marcados con marcadores electroquimioluminiscentes) específicos de un analito de interés, co-reactivos de EQL, enzimas, sustratos enzimáticos, reactivos de extracción, patrones de calibración de ensayo o controles, soluciones de lavado, diluyentes, amortiguadores, marcadores (preferiblemente, marcadores electroquimioluminiscentes), etc. Los kits preferidos incluyen cartuchos adaptados para la extracción de muestras (como se describió anteriormente en detalle), preferiblemente de muestras recogidas con varillas aplicadoras. Estos kits incluyen preferiblemente varillas aplicadoras (más preferiblemente hisopos) que tienen propiedades que coinciden con el cartucho específico. Más preferiblemente, las varillas aplicadoras tienen puntos débiles que se adaptan a la geometría de una cámara de introducción de muestra en el cartucho de modo que i) las varillas pueden ser insertadas y hendidas en el cartucho para formar un segmento del cabezal y ii) existe la posibilidad de sellar el segmento del cabezal en la cámara de muestras. Esos kits pueden incluir también soluciones amortiguadoras de extracción para la extracción de la muestra en varilla aplicadora. Una forma de realización es un kit para la medición de agentes patógenos de las vías respiratorias superiores o patógenos que puedan encontrarse en muestras que contienen mucosidad. El kit incluye una varilla aplicadora (preferiblemente, un hisopo) para recoger la muestra (la varilla preferiblemente incluye un punto débil) y un cartucho para medir un panel de patógenos (por ejemplo, un panel de patógenos de las vías respiratorias superiores, un panel de enfermedades de transmisión sexual, un panel de patógenos que habitan en las membranas mucosas, etc.); el cartucho consta preferiblemente de uno o varios dominios de unión que contienen reactivos de unión que se unen a los marcadores de estos patógenos. El kit también puede contener (en el cartucho o como un componente independiente), uno o varios reactivos de unión marcados contra los marcadores de estos patógenos.

La descripción incluye módulos de ensayo (preferiblemente cartuchos de ensayo) y lectores de módulos (preferiblemente lectores de cartuchos) como se ha descrito anteriormente. Éstos pueden ser suministrados como componentes independientes. La descripción también incluye sistemas de ensayos que forman un módulo de ensayo (preferiblemente un cartucho) y un lector de módulos (preferiblemente un lector de cartuchos).

La presente invención no está limitada en su ámbito de aplicación por las formas de realización específicas de la invención descritas en este documento. De hecho, diversas modificaciones de la invención, además de las aquí descritas serán evidentes para los expertos en la materia a partir de la descripción precedente y las figuras adjuntas. Estas modificaciones están destinadas a entrar dentro del alcance de las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un cartucho de ensayo (3700) para analizar una muestra recogida con una varilla aplicadora (3030) que comprende un eje (3072) y un cabezal de recogida de muestra (3071), dicho cartucho (3700) que comprende una cámara de muestras (3720) que tiene una cavidad alargada que tiene una primera región y una segunda región, en donde la cámara de muestras (3720) comprende un puerto de introducción de muestras, en donde la primera región está próxima al puerto de introducción de muestras y la segunda región está distal al puerto de introducción de muestras, en donde dichas primera y segunda regiones se orientan en un ángulo con respecto entre sí y dicho ángulo se selecciona para doblar dicho eje (3072) tras la inserción de dicha varilla aplicadora (3030) en dicha cámara de muestras (3720) y promover la rotura de dicho eje (3072), y en donde cámara de muestras (3720) comprende una característica de retención del cabezal de muestra ubicada en una transición entre la primera región y la segunda región, en donde dicha característica de retención del cabezal de muestra es una plataforma (3721b), en donde dicha plataforma (3721b) es una discontinuidad escalonada en una superficie interna de dicha cámara de muestras (3720), en donde la cámara de muestras (3720) es curva, y en donde un radio de curvatura de la cámara de muestras (3720) en la primera región es menor que un radio de curvatura de la cámara de muestras (3720) en la segunda región, y la plataforma (3721b) se ubica en una superficie curva exterior de las superficies curvas que definen la cámara de muestras (3720), de manera que cuando el eje (3072) rompe la cámara de muestras (3720), se libera tensión y un extremo de un fragmento unido al cabezal de recogida (3071) se empuja contra la superficie curva exterior y se bloquea en su lugar por la plataforma (3721b).
2. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 1, que comprende además una lengüeta (3721a) en ángulo para permitir la inserción del eje (3072) en la cámara de muestras (3720) y evitar la retirada del cabezal de recogida (3071) de la cámara de muestras (3720).
3. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 2, en donde dicha cámara de muestras (3720) incluye un lugar de extracción del cabezal de recogida de muestras en o cerca de un término de dicha cavidad y dicha lengüeta (3721a) se ubica en dicha cavidad para retener dicho cabezal de recogida (3071) en dicho lugar de extracción del cabezal de recogida de muestras.
4. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 3, en donde un radio de curvatura de dicha superficie interna de la cámara de muestras (3720), como una función de aumentar la profundidad en dicha cavidad alargada, pasa de un primer valor a un segundo valor mayor en dicha discontinuidad.
5. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 1, en donde dicha cámara de muestras (3720) incluye un lugar de extracción del cabezal de recogida de muestras en o cerca de un término de dicha cavidad y dicha lengüeta (3721a) se ubica en dicha cavidad para acoplar un fragmento de eje unido a dicho cabezal de recogida después que dicho eje se rompe y para retener dicho cabezal de recogida (3071) en dicho lugar de extracción del cabezal de recogida de muestras.
6. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 1, en donde dicha segunda región comprende un elemento de filtro integrado, y dicho cartucho de ensayo (3700) comprende además una cámara de extracción de solución amortiguadora conectada a un puerto de ventilación de extracción de solución amortiguadora y un conducto de extracción de solución amortiguadora conectado a dicha cámara de muestras (3720), en donde cámara de muestras (3720) se conecta a una cámara de acogida a través de un conducto de cámara de muestras.
7. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 6, en donde dicho conducto de extracción de solución amortiguadora comprende un perfil adaptador en Z.
8. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 7, en donde dicha cámara de muestras (3720) tiene un término interno y dicho elemento de filtro integrado se ubica en o cerca de dicho término interno.
9. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 8, en donde dicho conducto de extracción de solución amortiguadora se ubica en o cerca de dicho término interno.
10. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 1, que comprende además un componente de recogida, en donde dicho componente de recogida comprende una cámara de recogida y una cámara de detección, en donde dicha cámara de detección se conecta a
- (i) un conducto de entrada conectado a la parte superior de dicha cámara de recogida, en donde dicho conducto de entrada se ubica próximo a una pared de dicha cámara de recogida;
- (ii) un conducto de salida conectado a la parte inferior de dicha cámara de recogida; y
- (iii) un conducto de detección que comprende un tubo que se extiende hacia abajo desde la parte superior de dicha cámara de recogida a una altura predefinida en dicha cámara de recogida, en donde dicha cámara de detección se conecta a dicho conducto de detección en la parte superior de dicha cámara de detección y próxima a una pared de dicha cámara de detección y a una ventilación de la cámara de detección.

11. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 10, en donde dicho componente de recogida comprende además una solución amortiguadora ubicada en la parte superior de dicha cámara de recogida y adyacente a dicho conducto de entrada.
- 5 12. El cartucho de ensayo (3700) conforme la reivindicación 10, en donde dicho componente de recogida comprende además un sensor óptico adaptado para detectar la presencia de líquido en dicha cámara de detección.

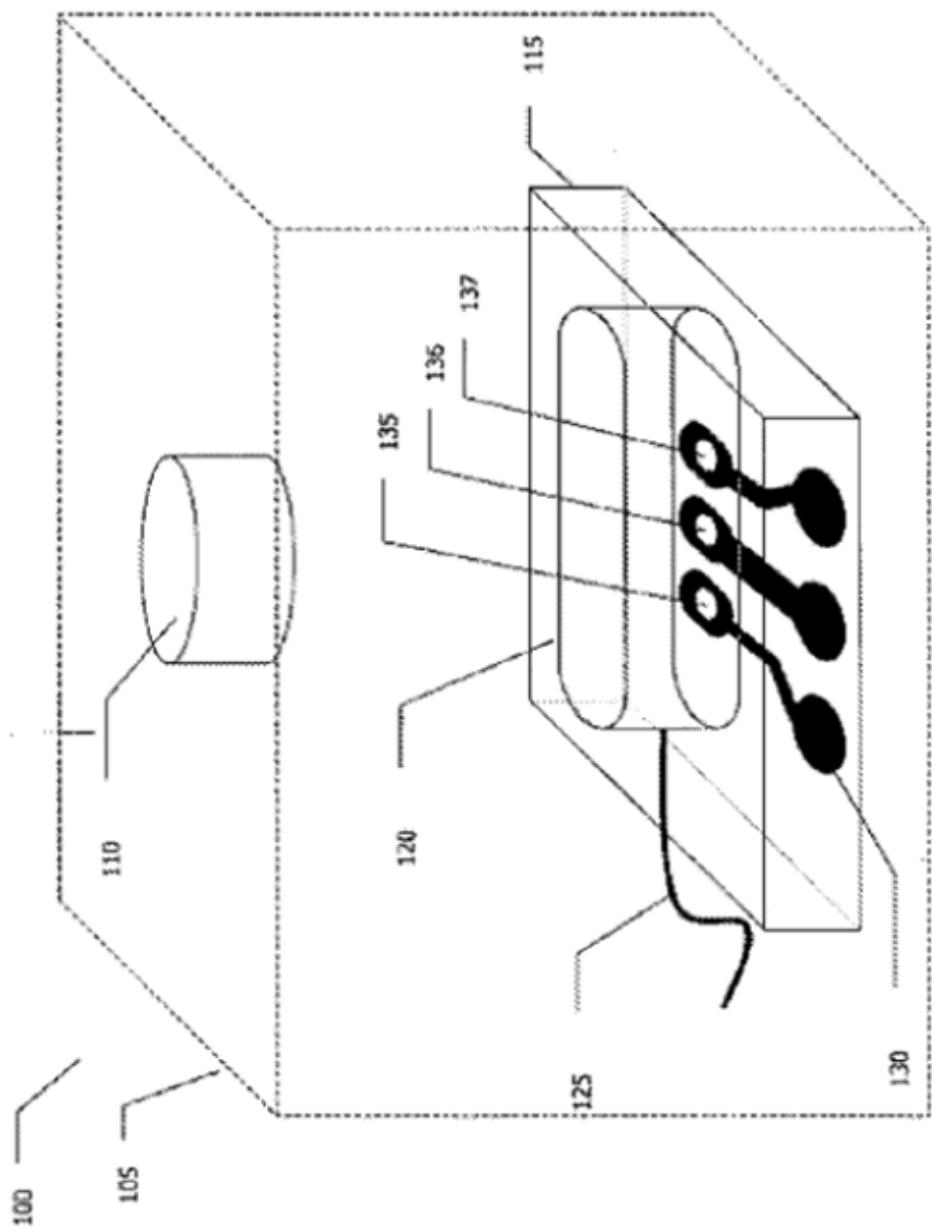


Fig. 1a

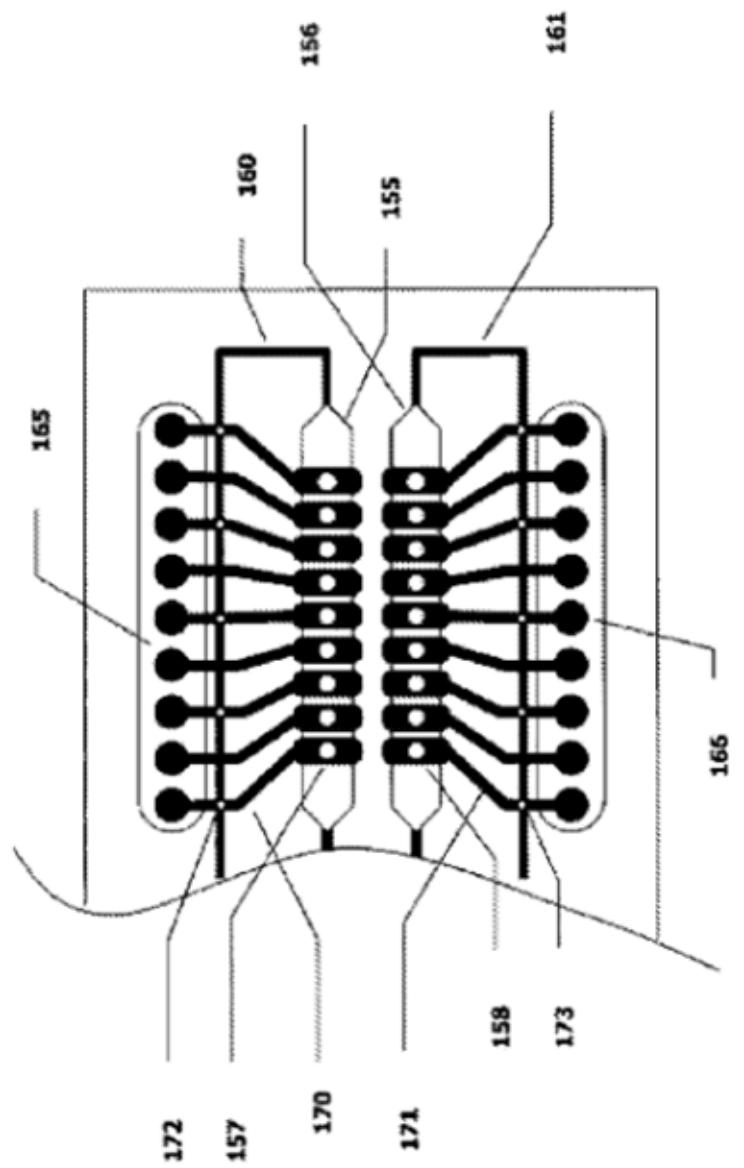


Fig. 1b

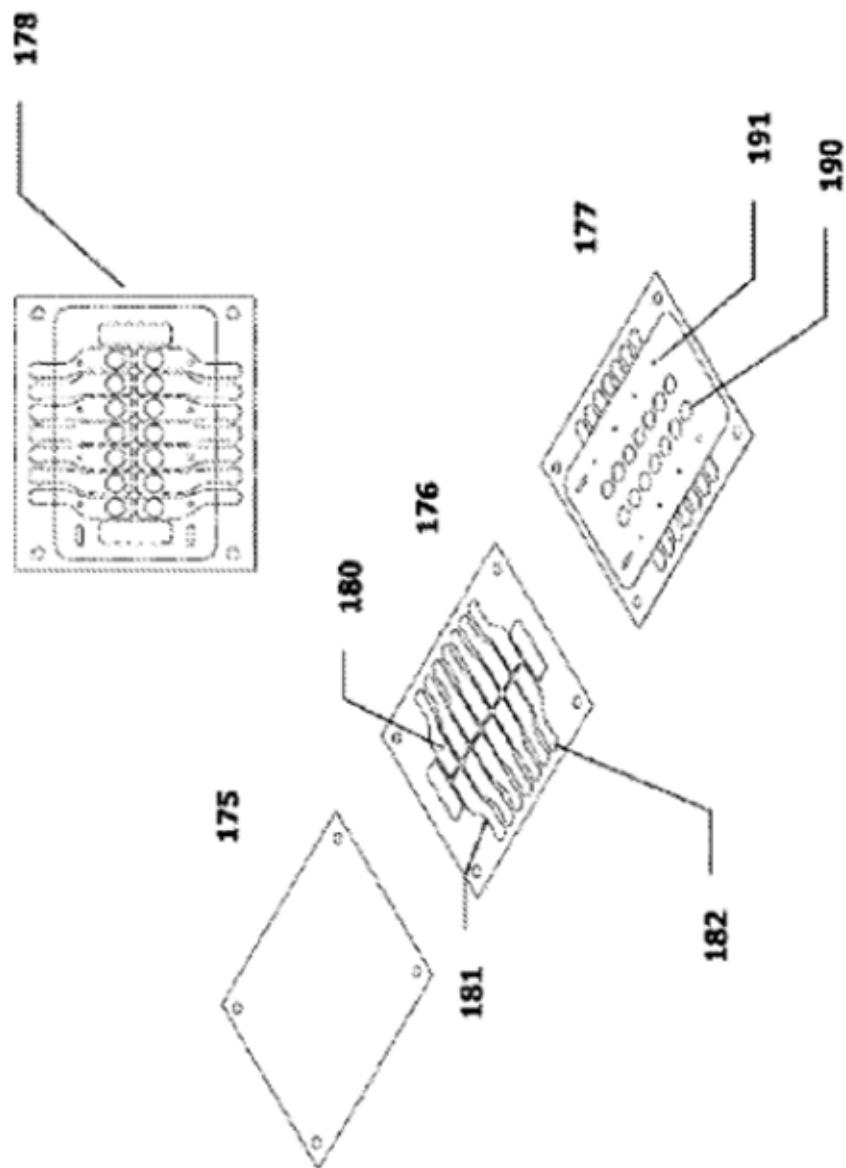


Fig. 1c

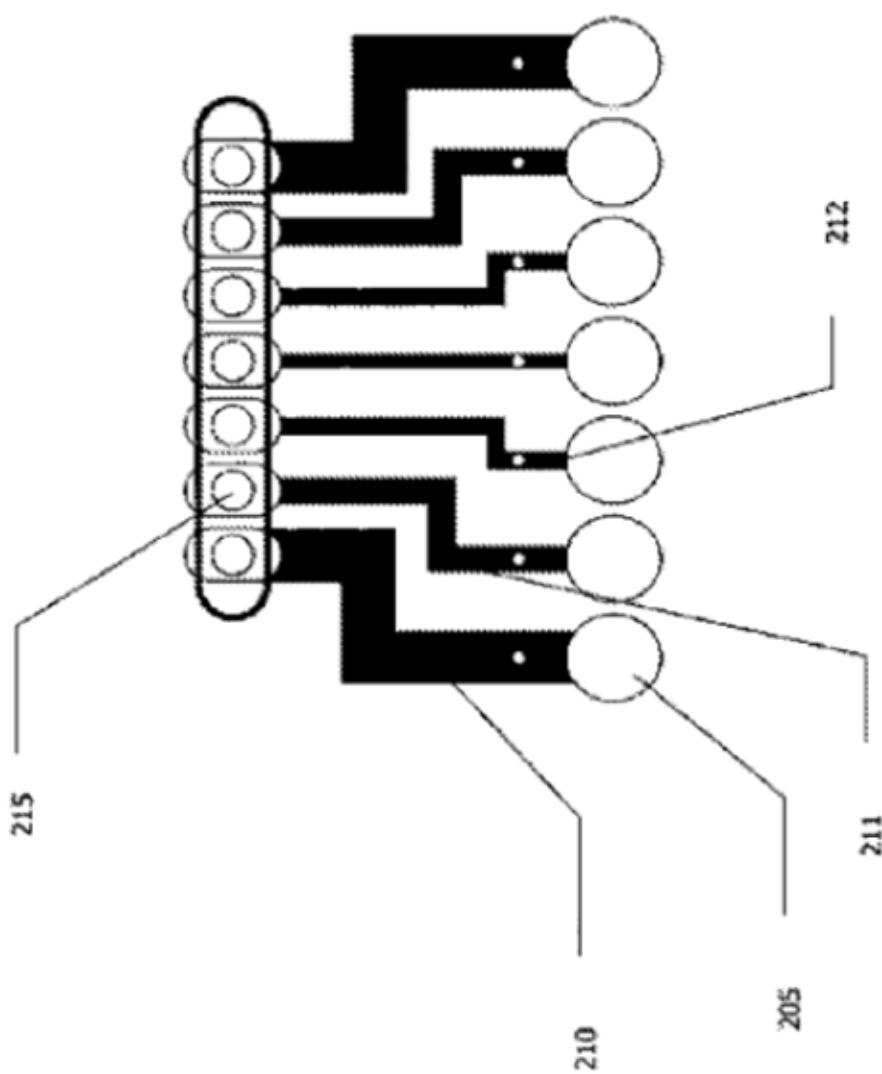


Fig. 2

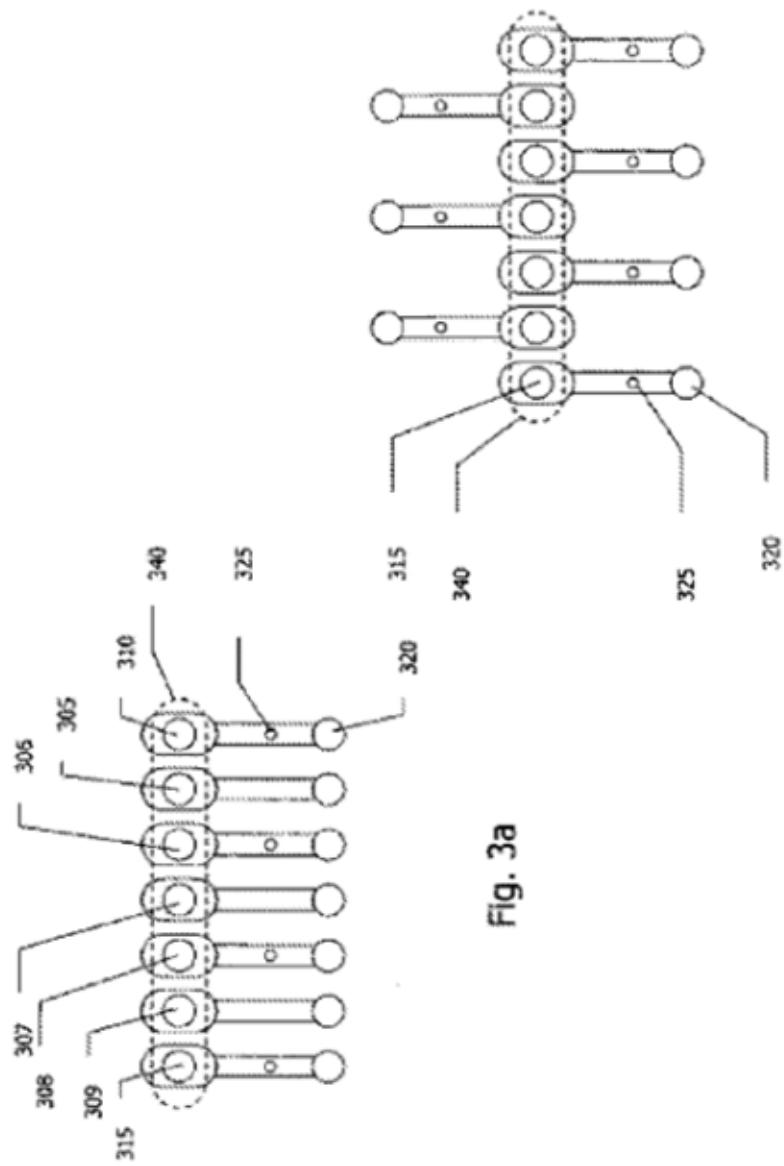


Fig. 3a

Fig. 3b

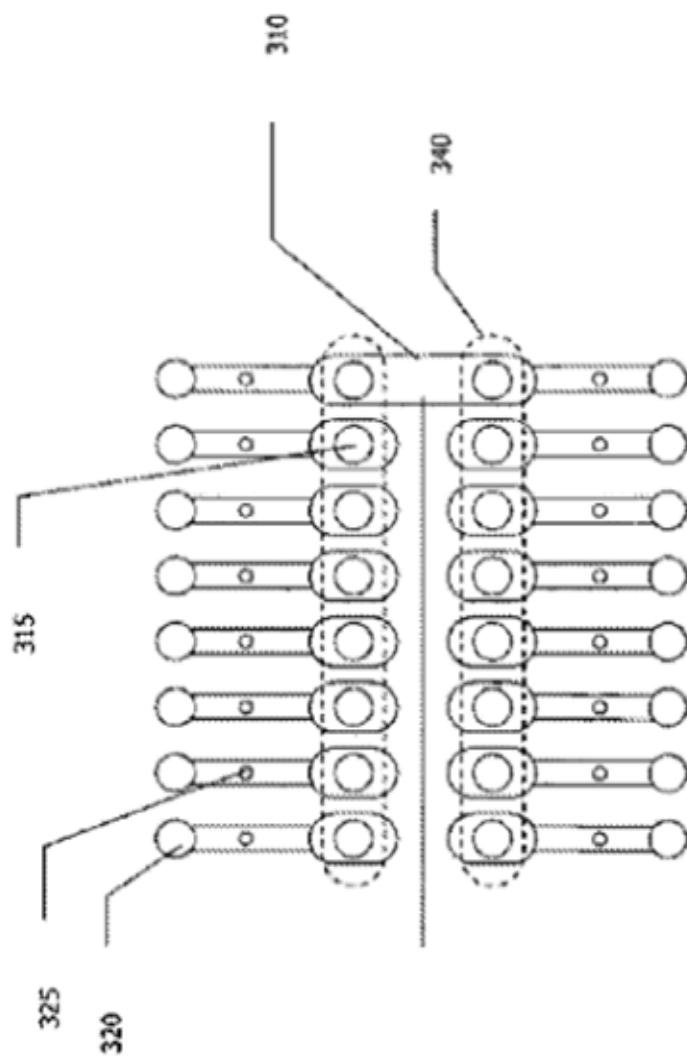


Fig. 3c

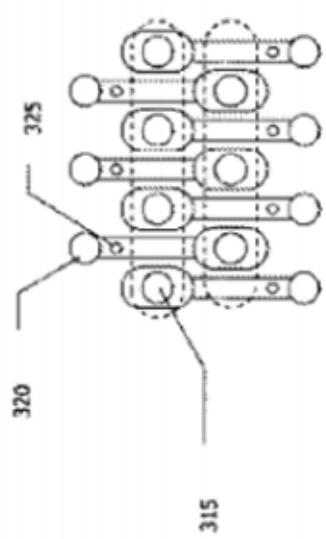


Fig. 3d

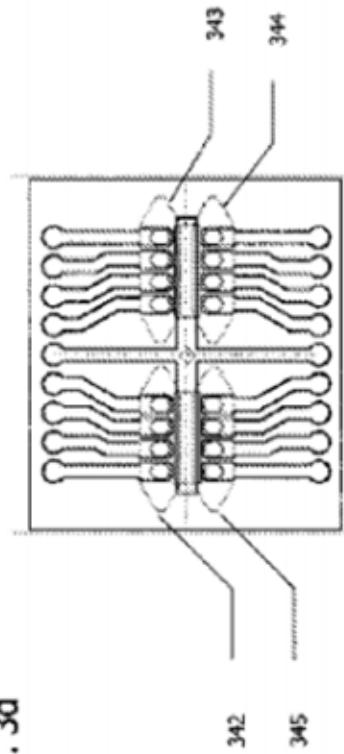


Fig. 3e

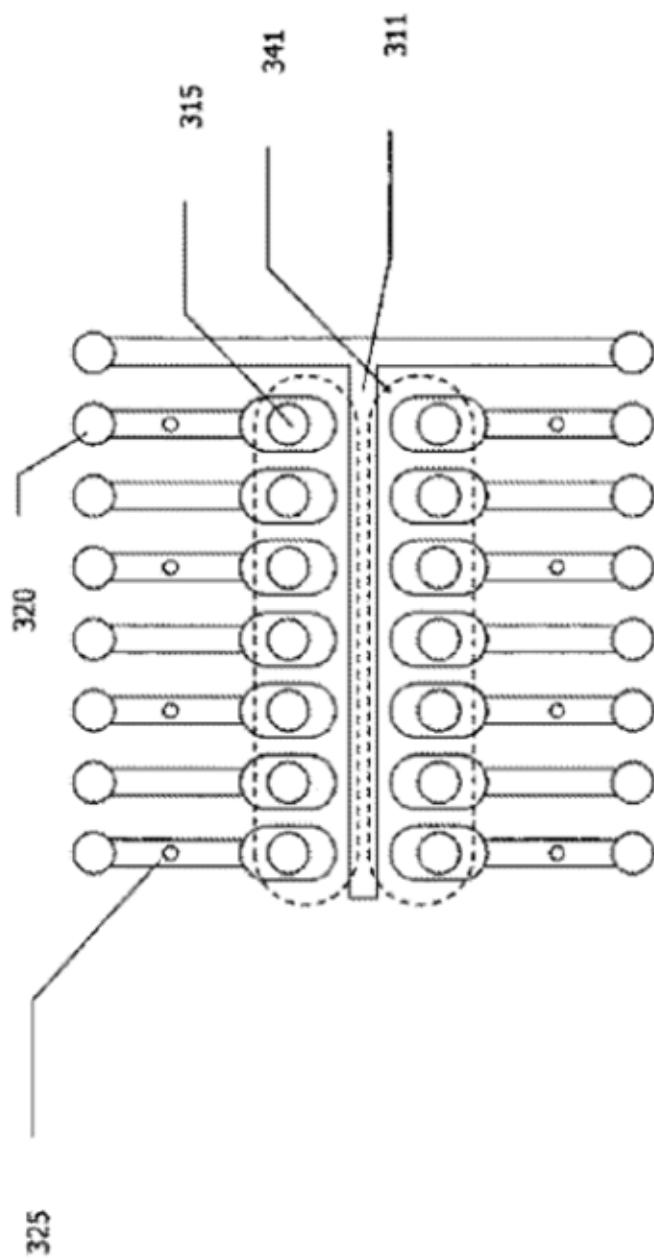


Fig. 3f

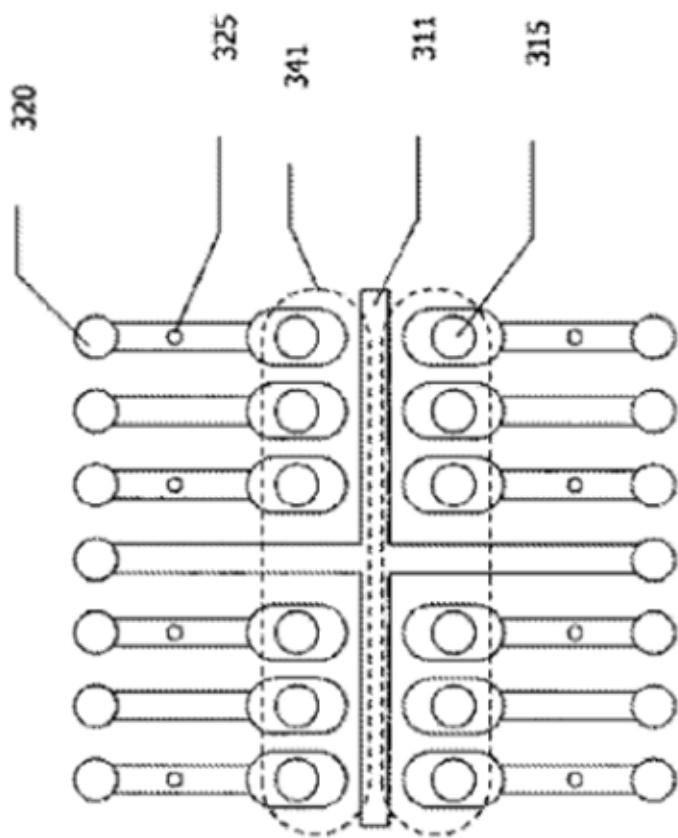


Fig. 3g

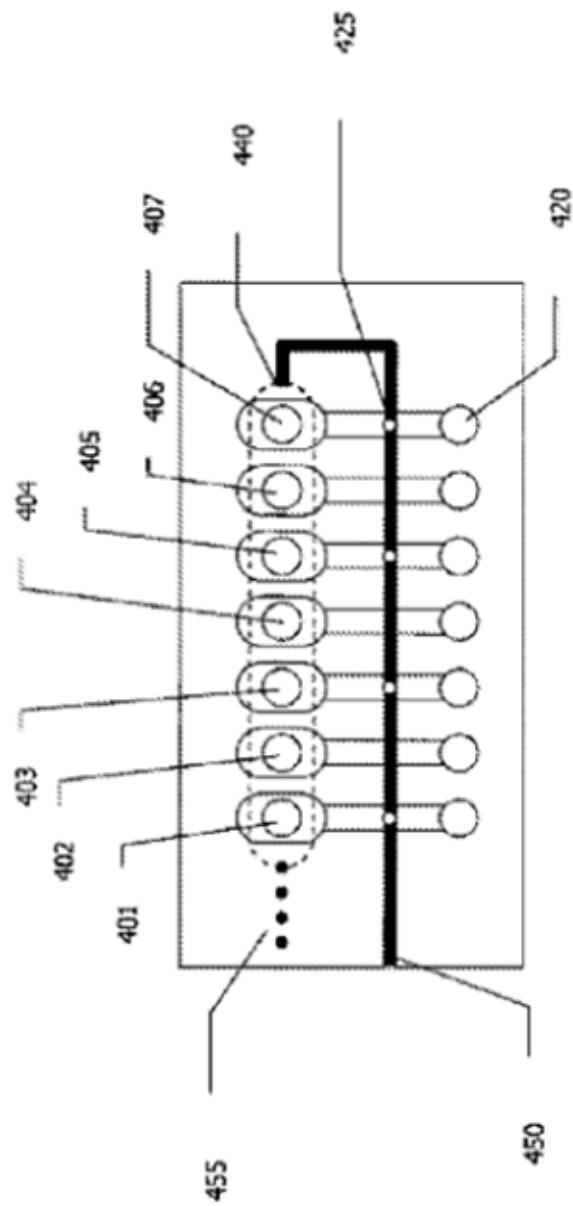


Fig. 4

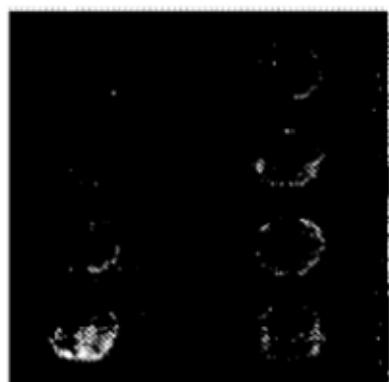


Fig. 6a

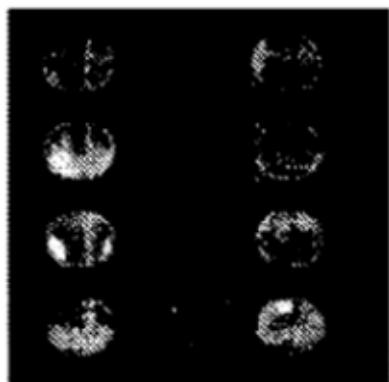


Fig. 6b



Fig. 5

590

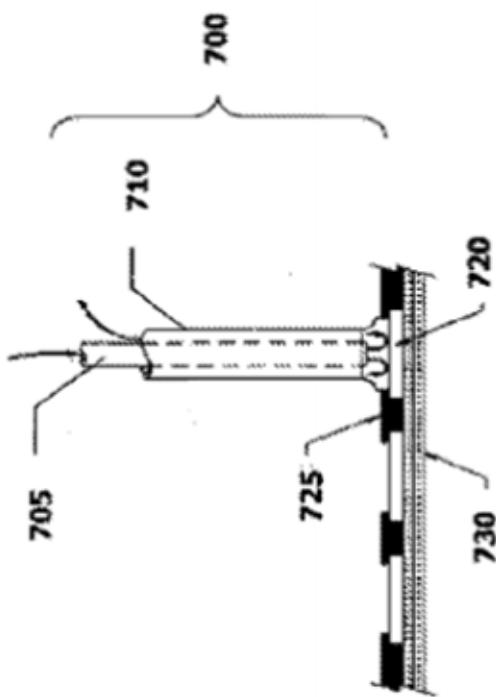


Fig. 7b

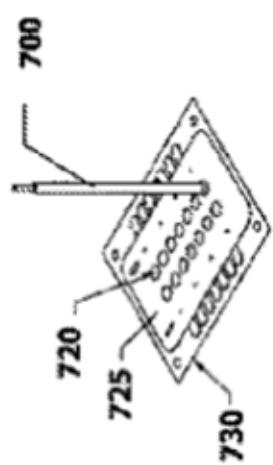


Fig. 7a

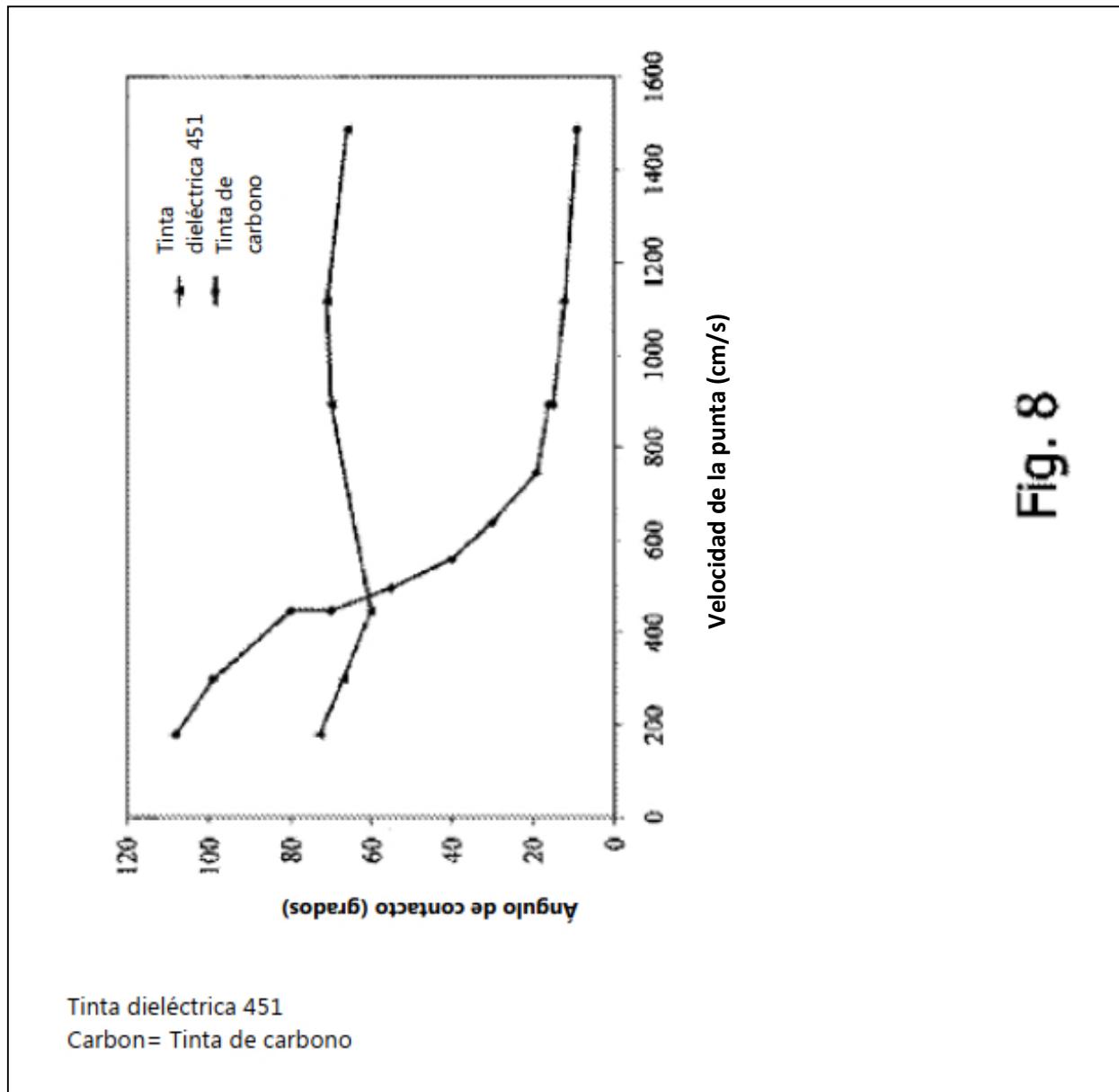


Fig. 8

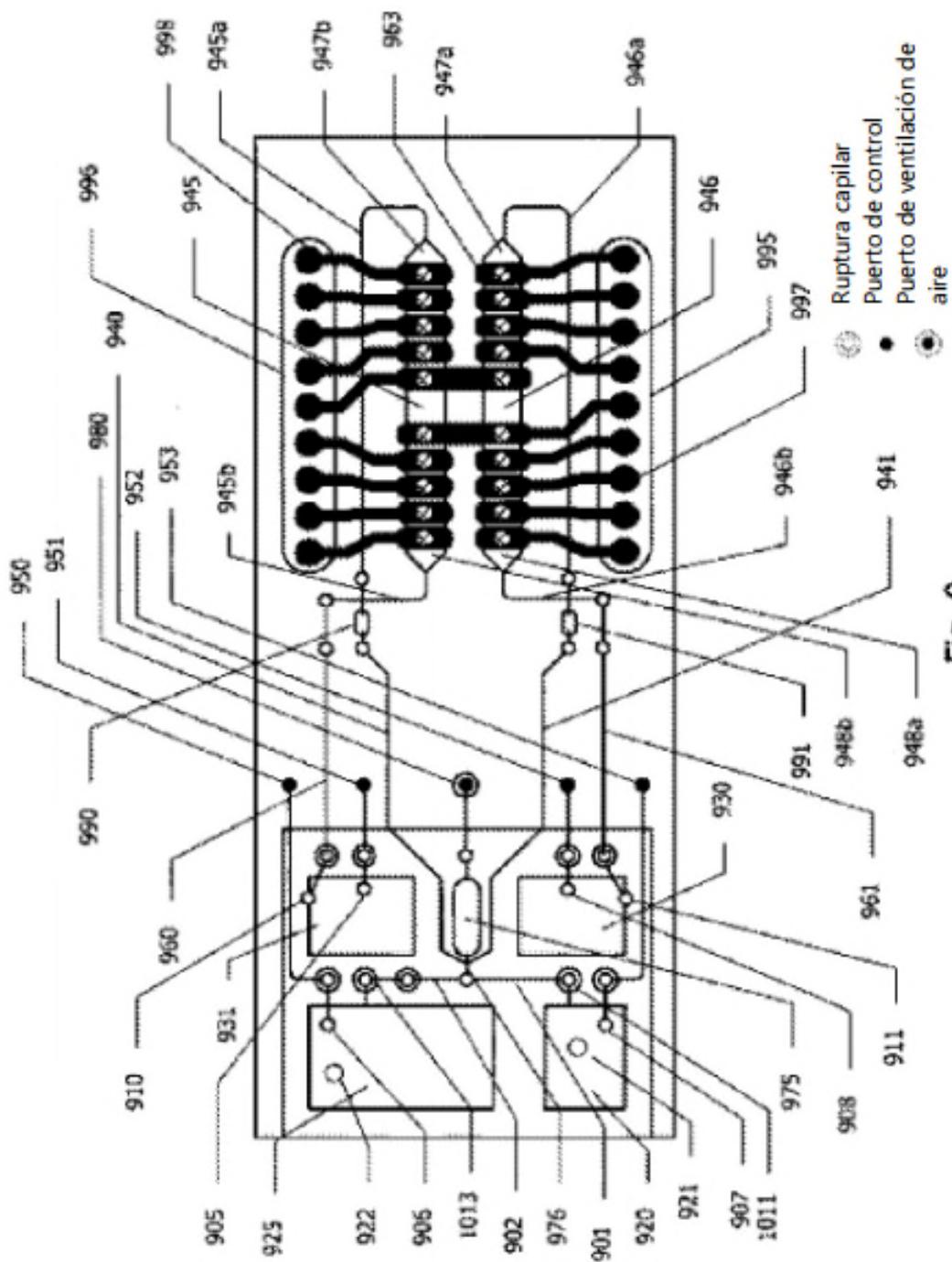


Fig. 9

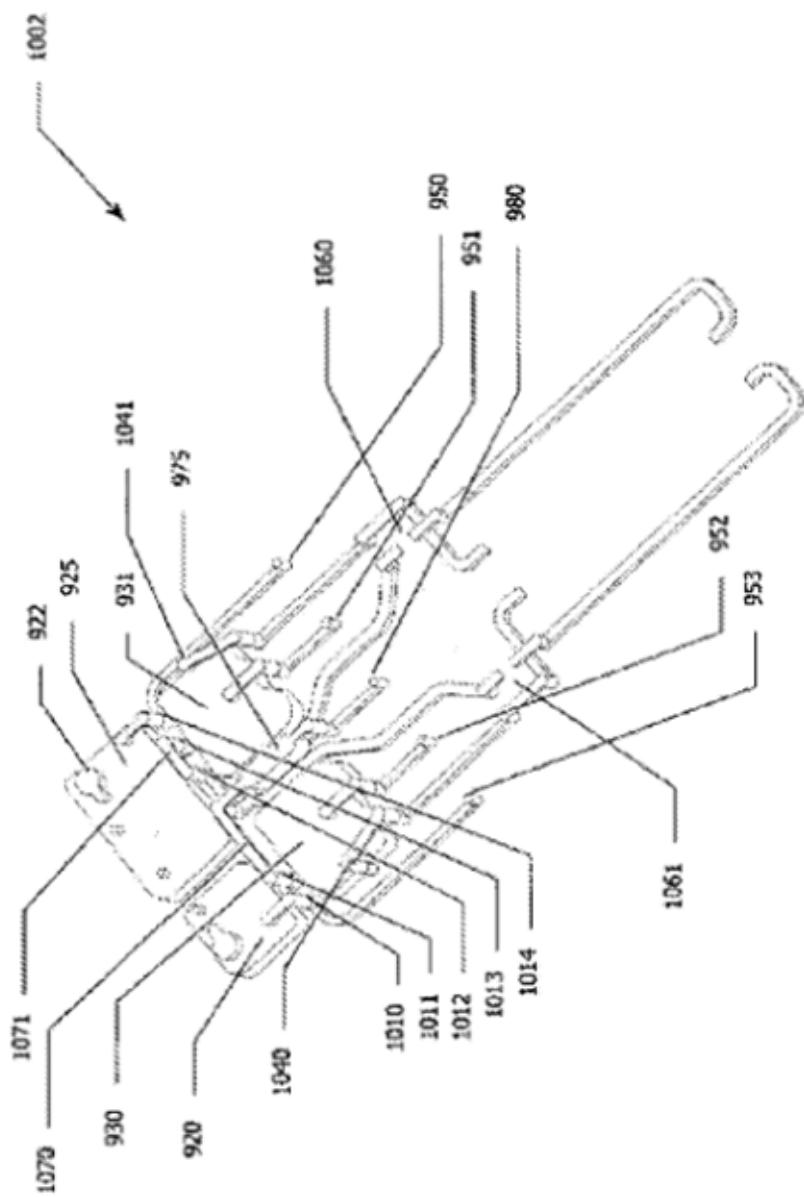


Fig. 10

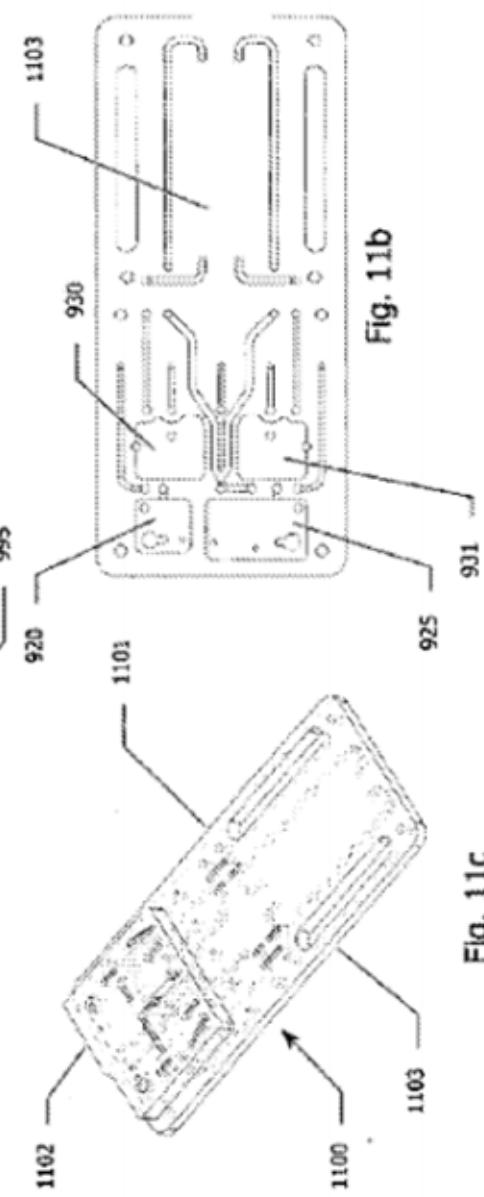
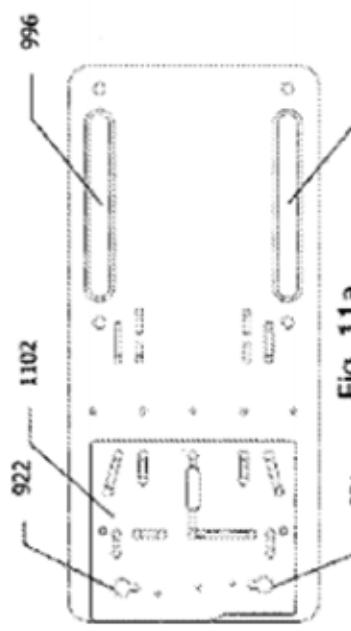
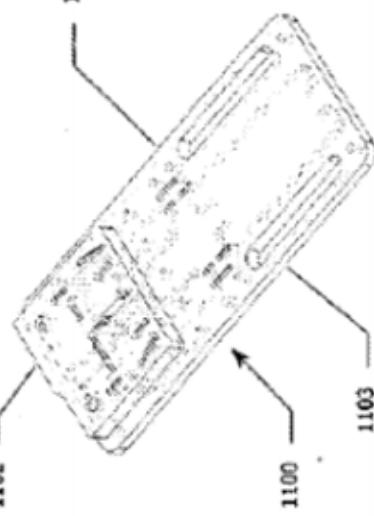


Fig. 11c



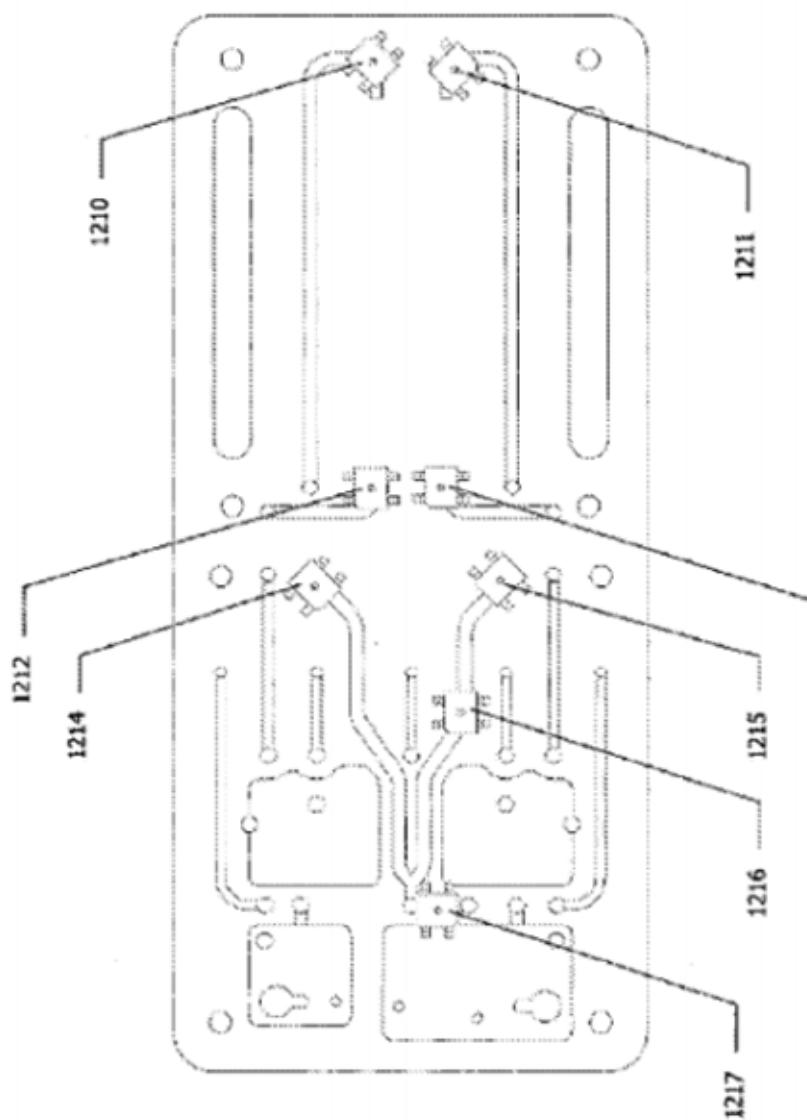


Fig. 12

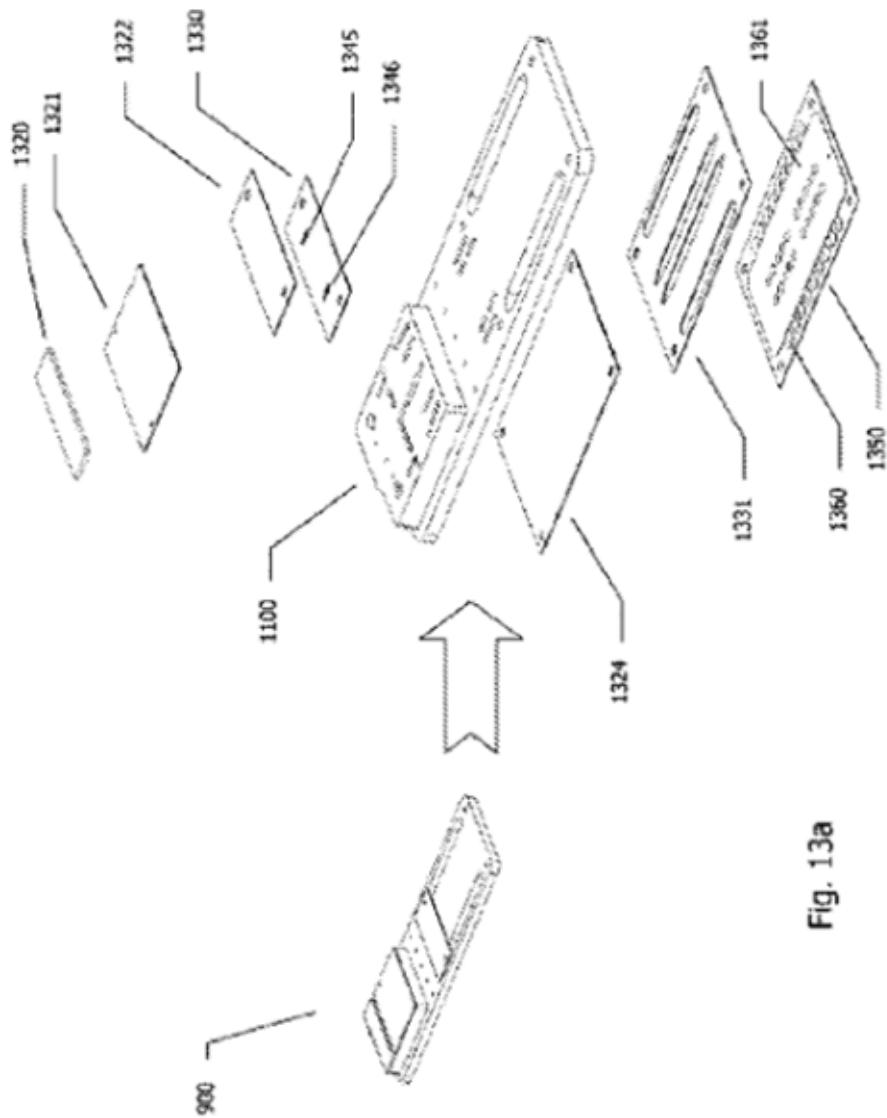


Fig. 13a

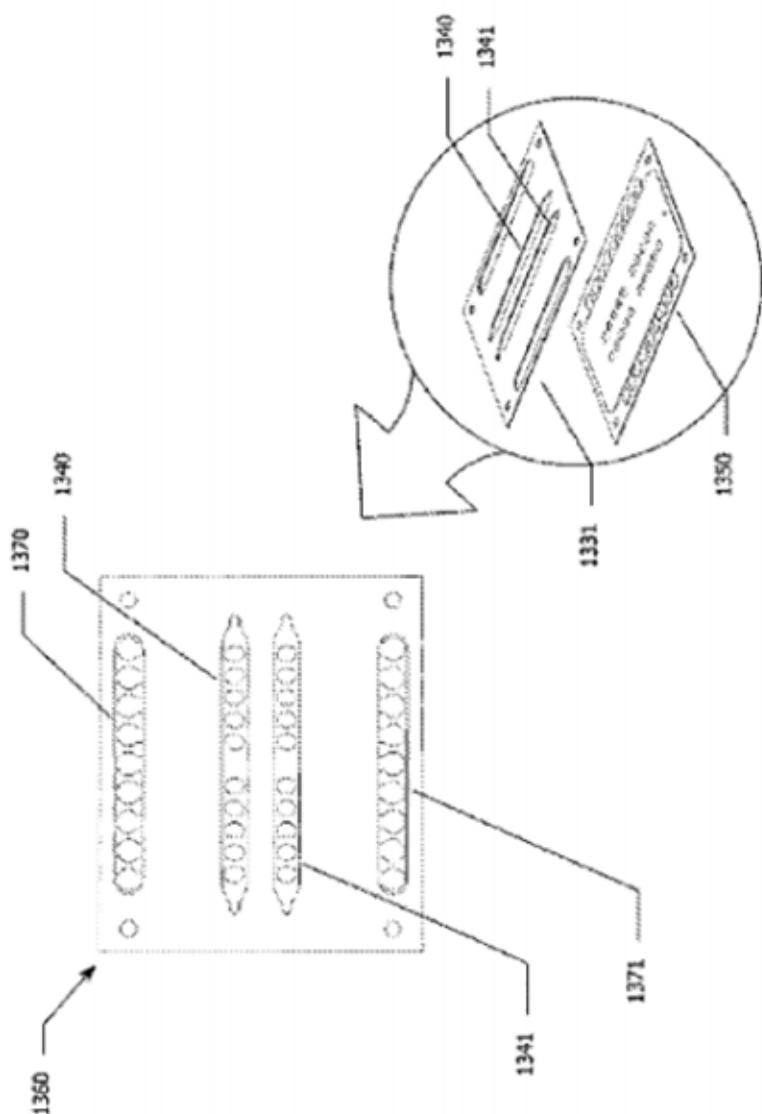


Fig. 13b

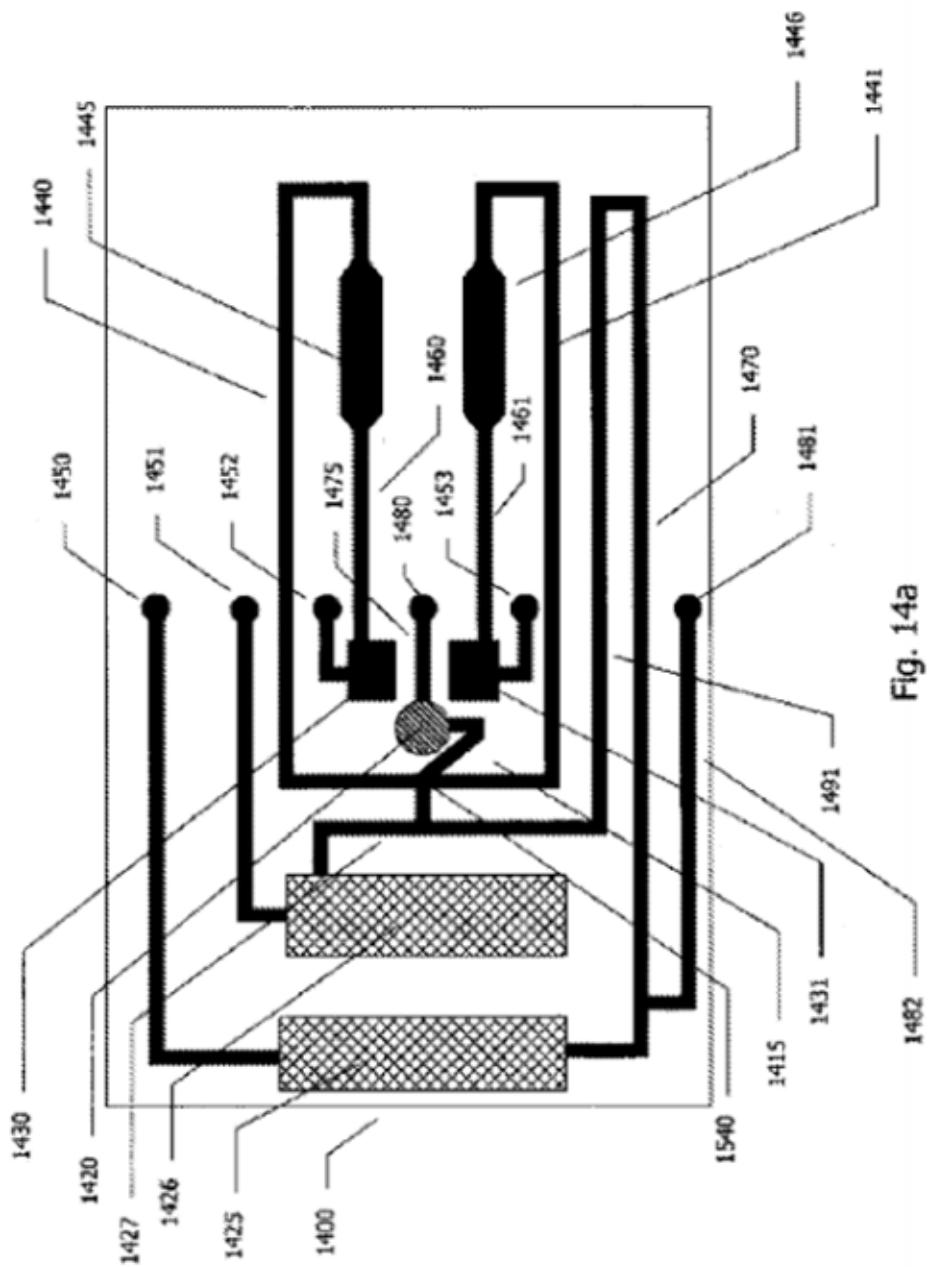


Fig. 14a

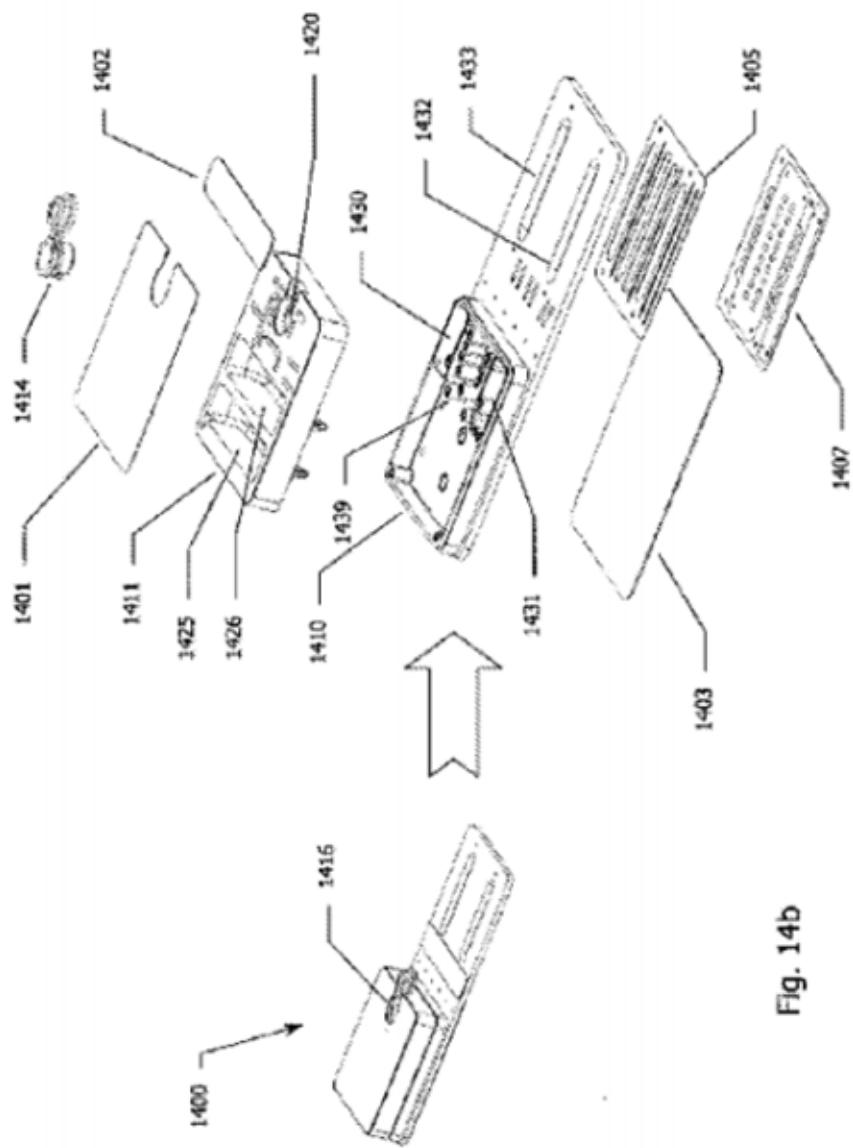


Fig. 14b

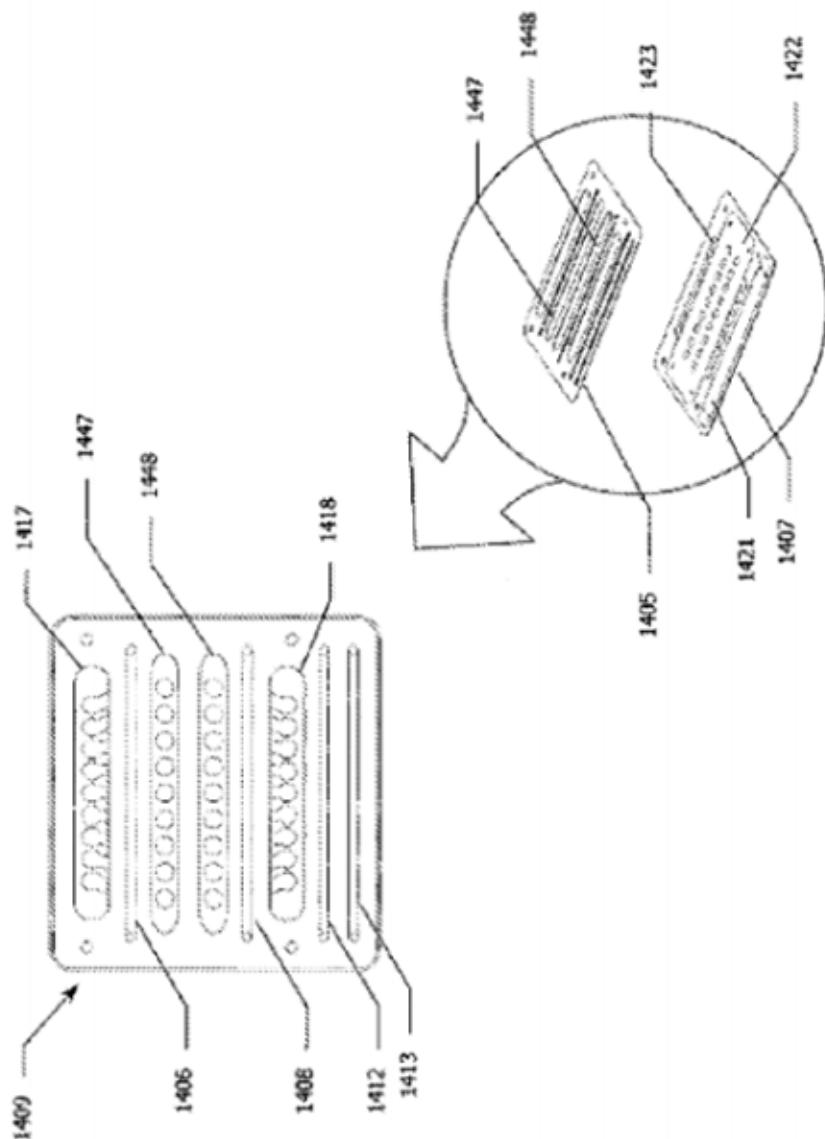


Fig. 14c

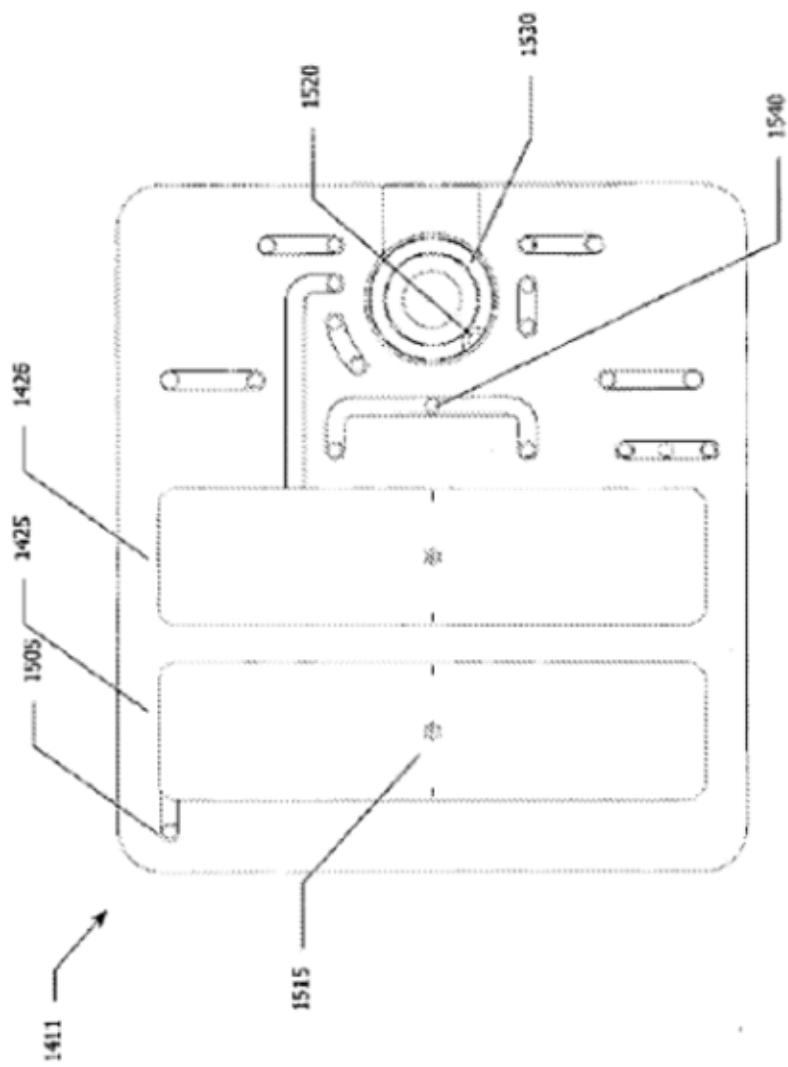


Fig. 15a

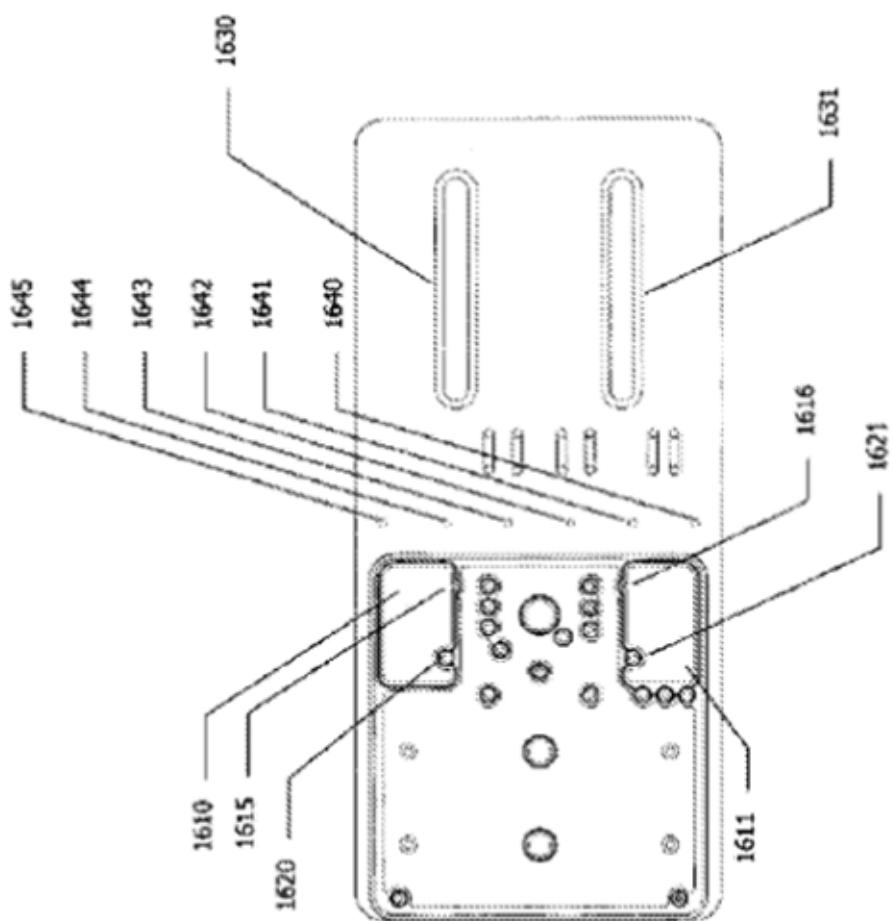


Fig. 16a

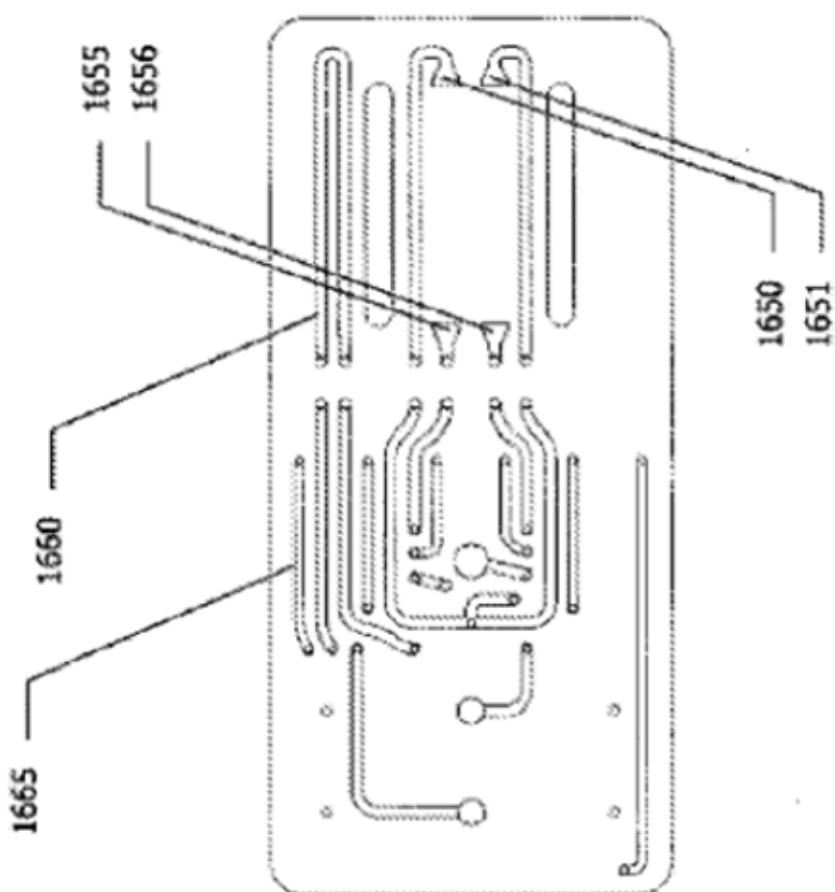


Fig. 16b

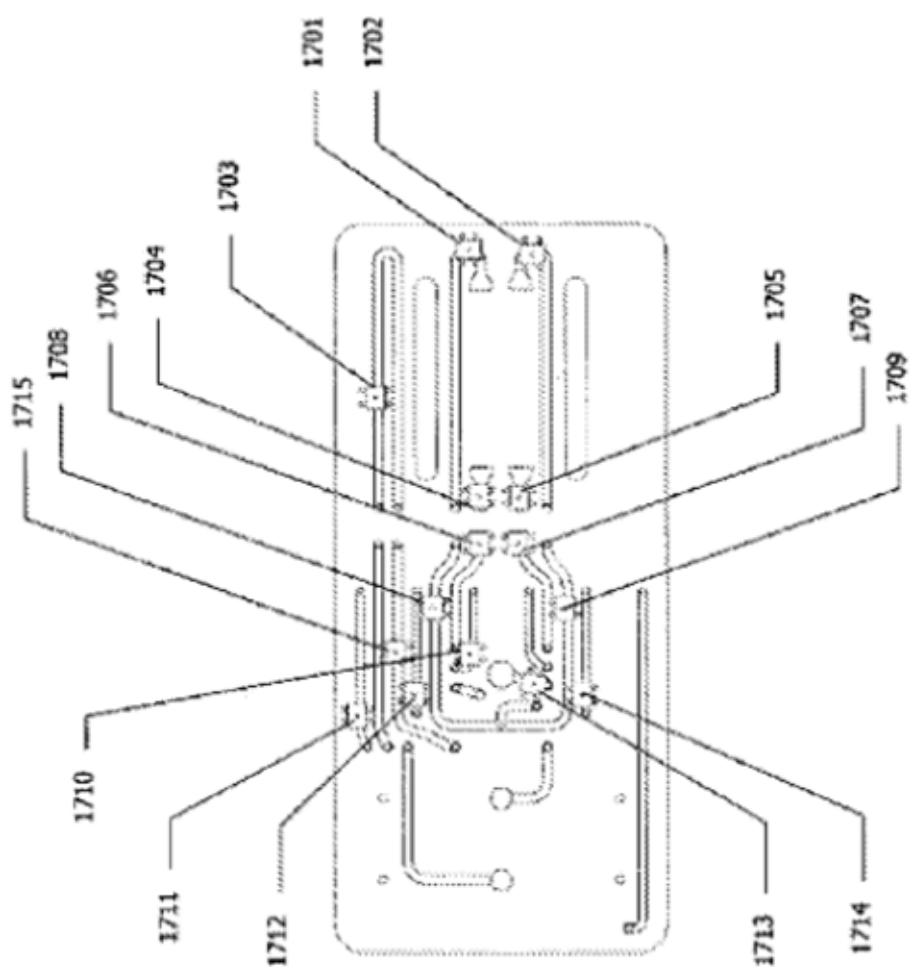
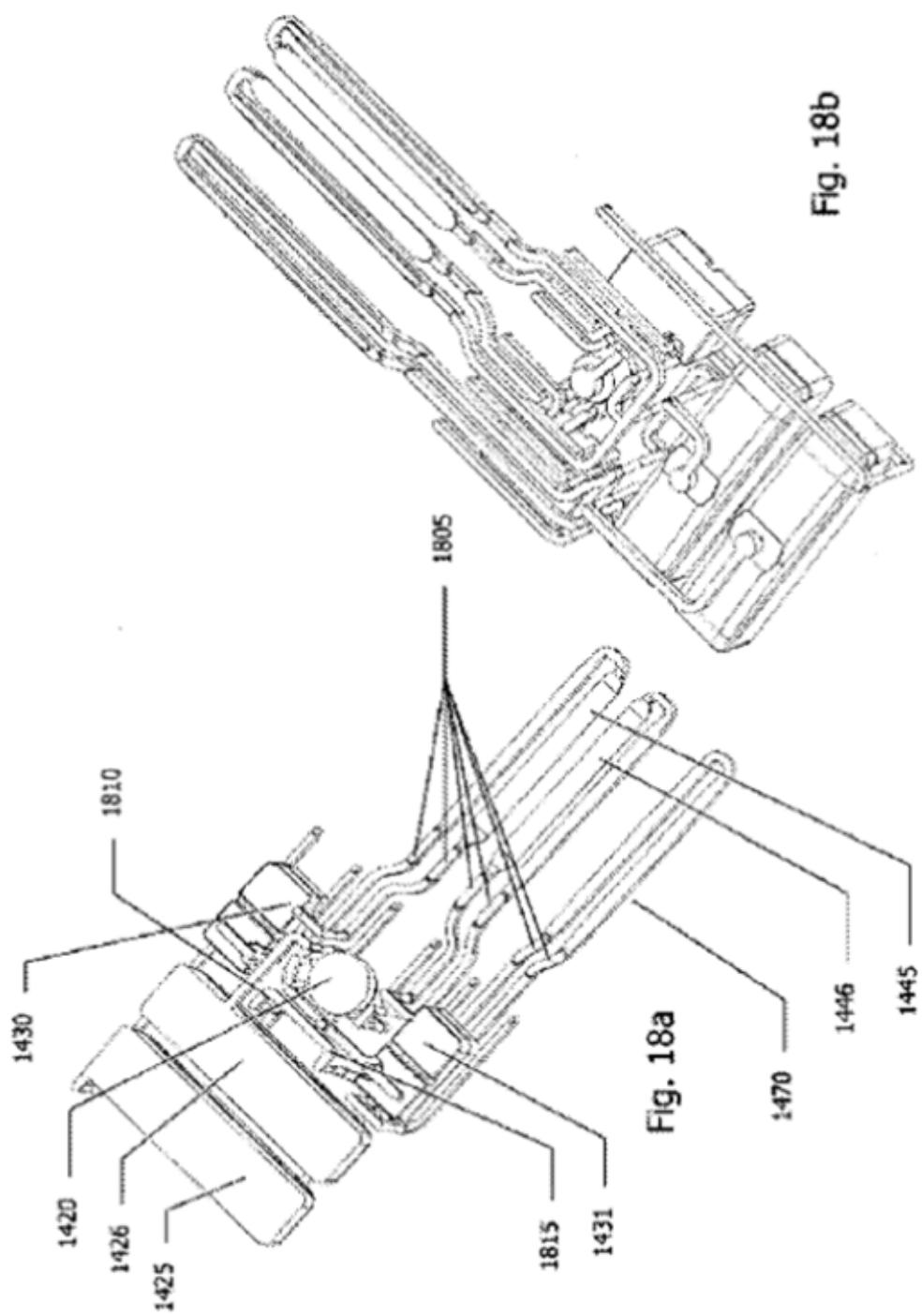


Fig. 17



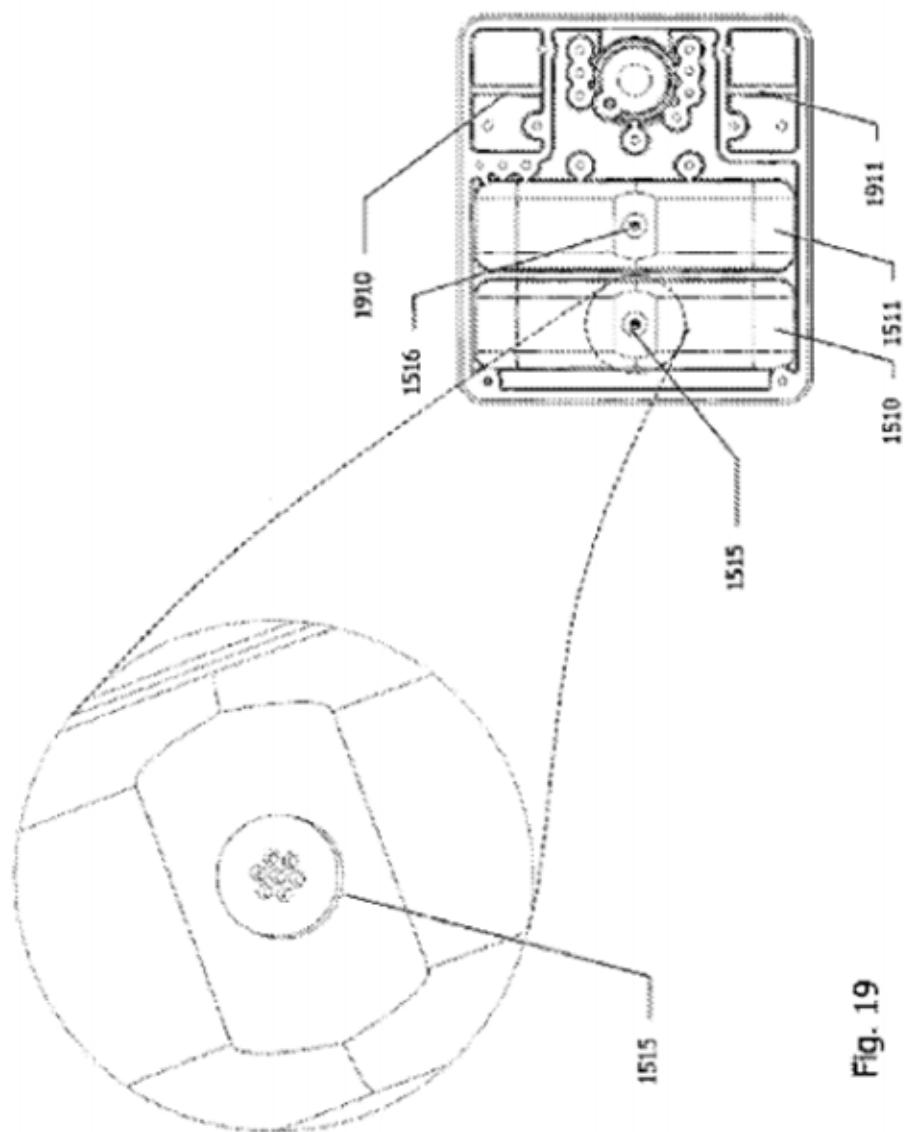


Fig. 19

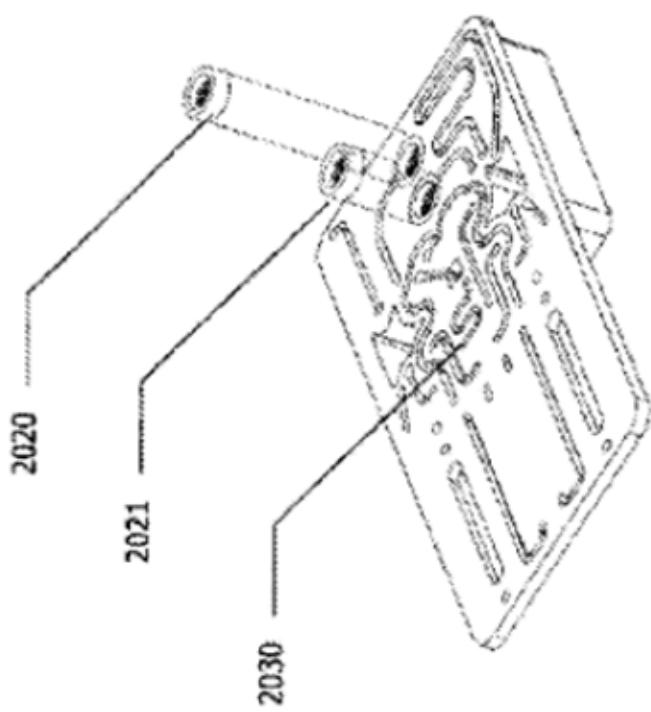


Fig. 20

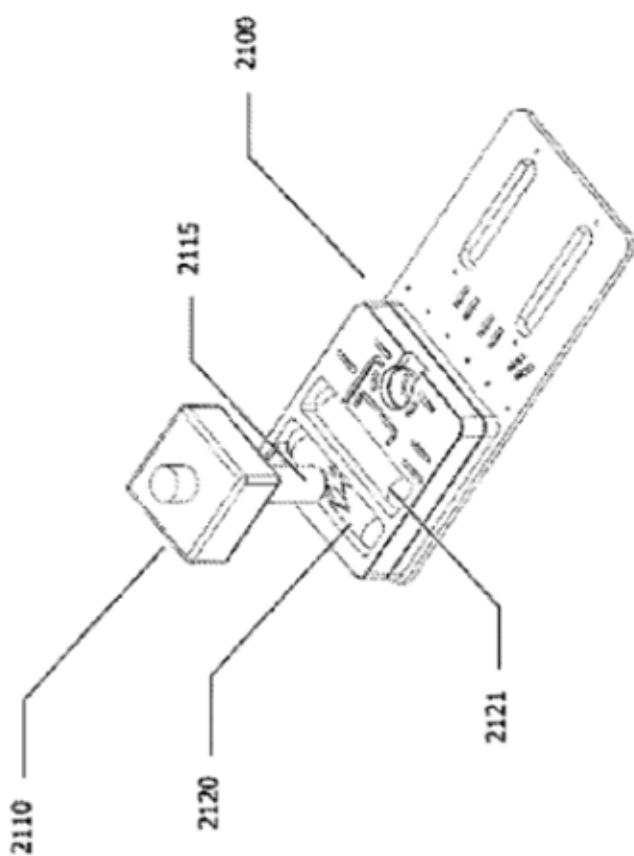


Fig. 21

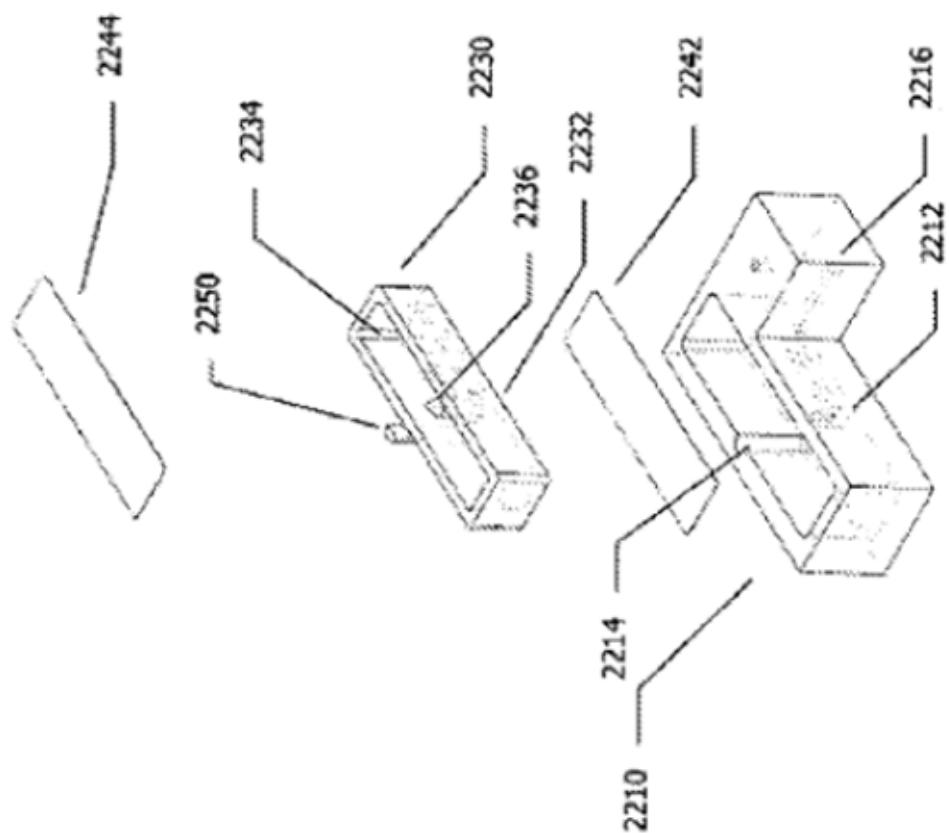


Fig. 22

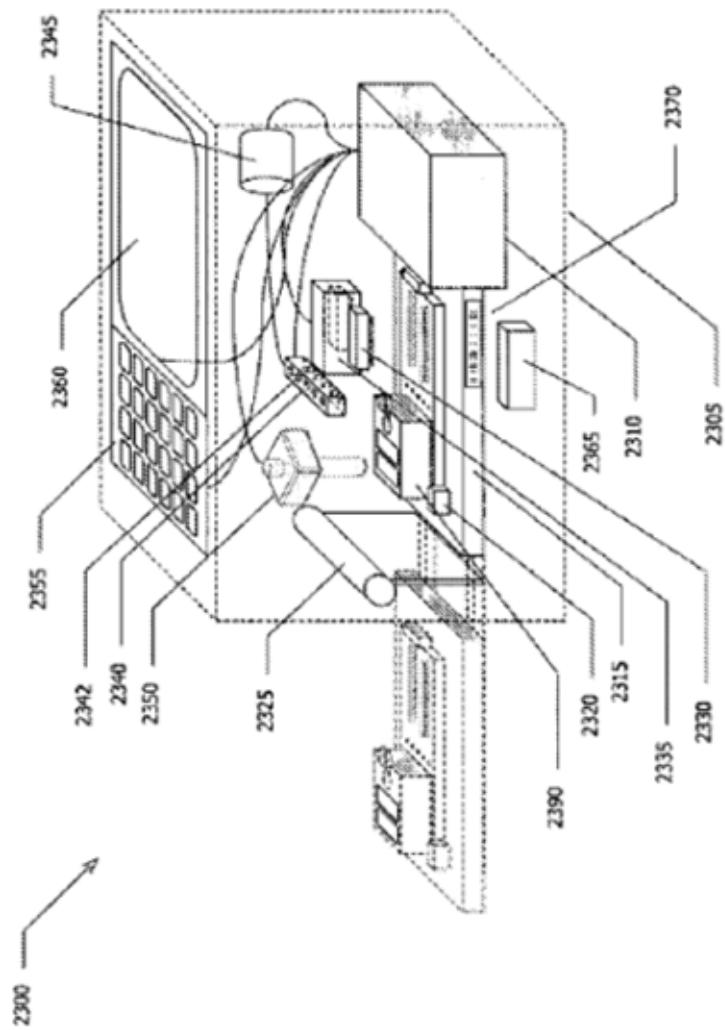
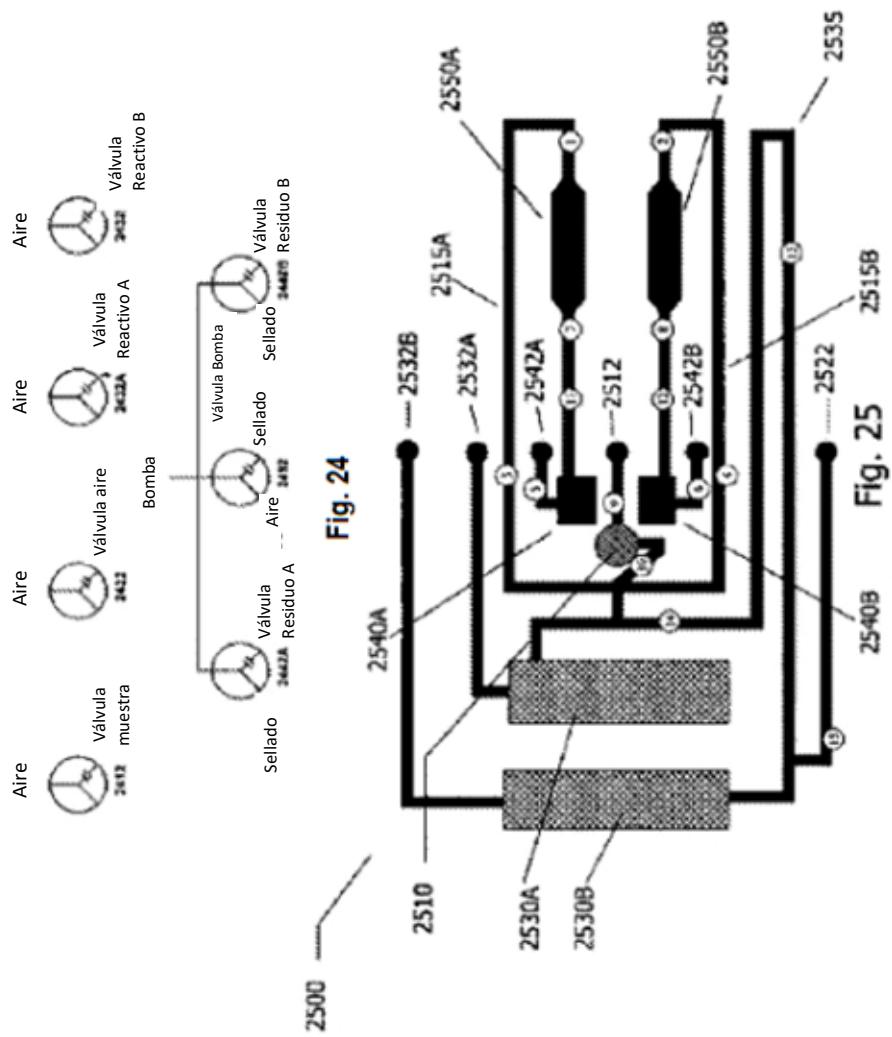
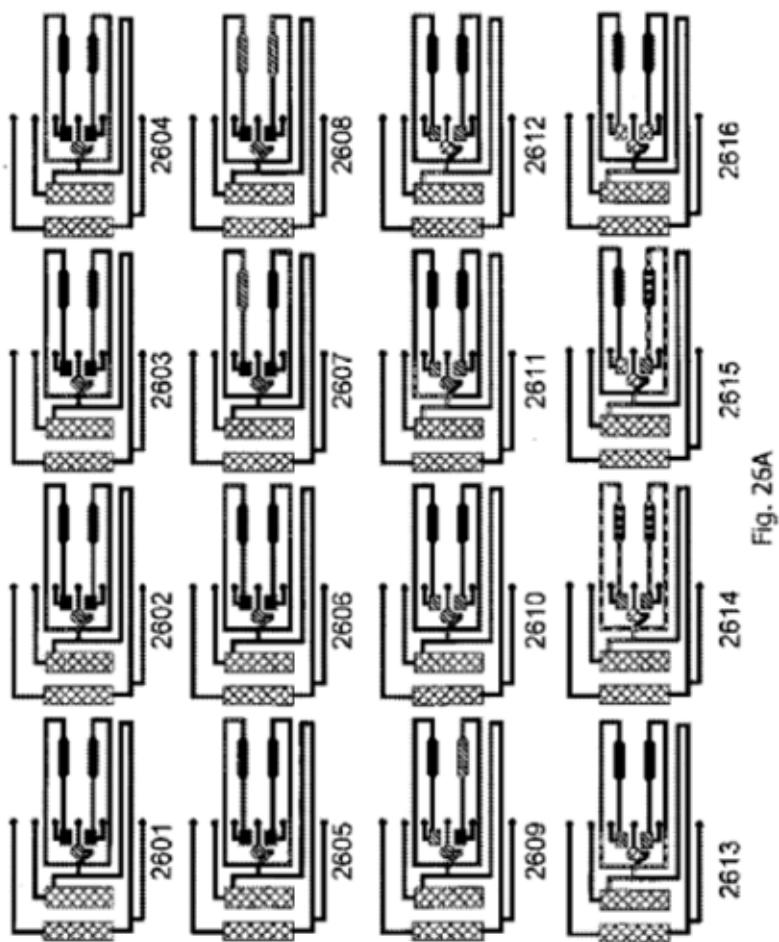


Fig. 23





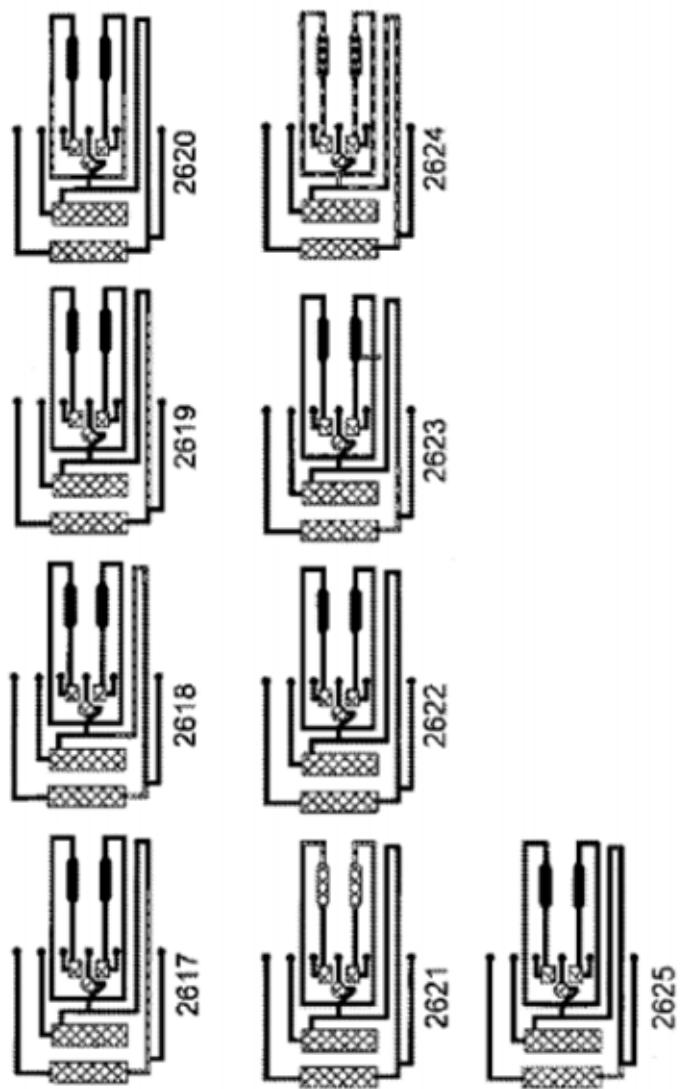


Fig. 26B

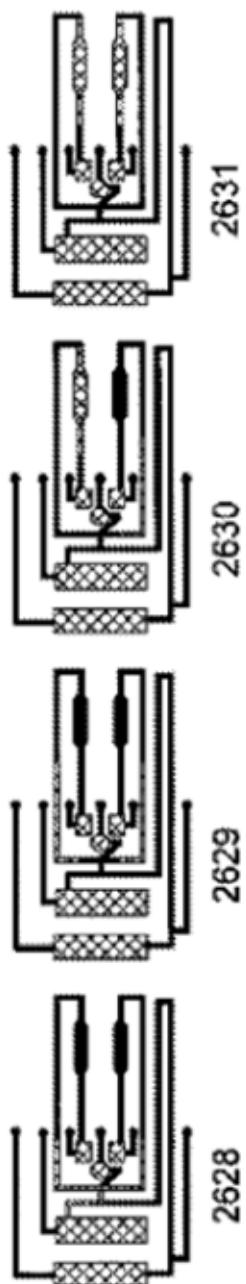


Fig. 26C

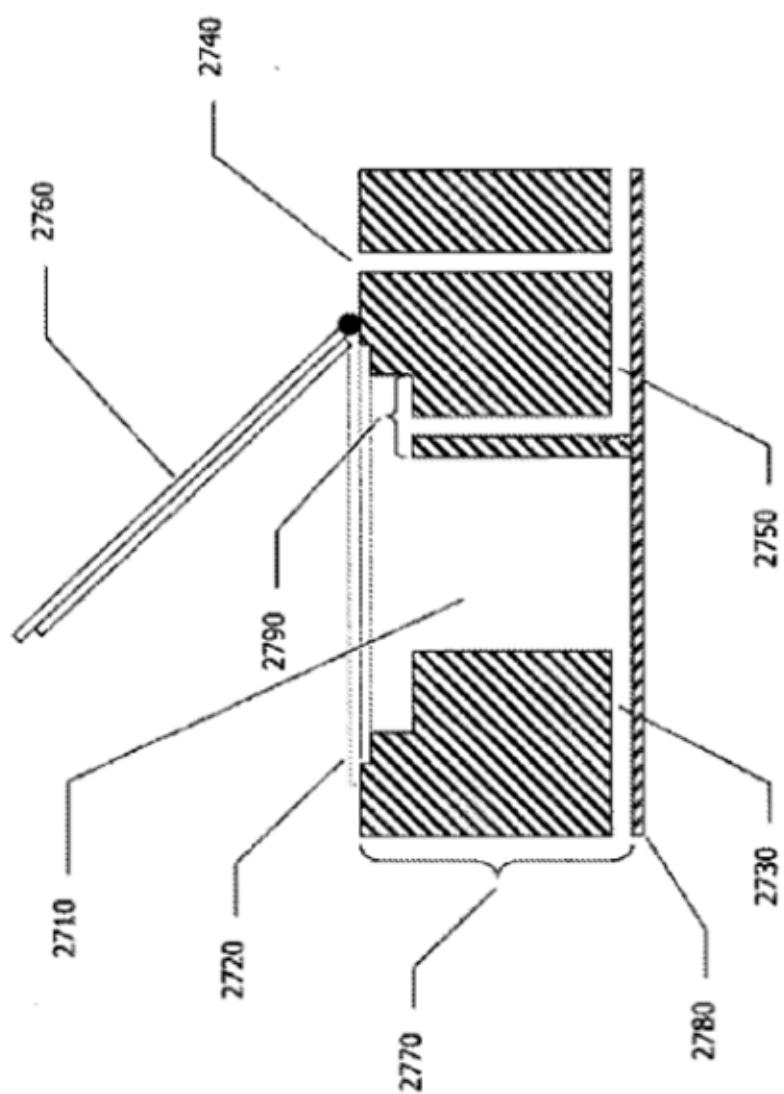


Fig. 27

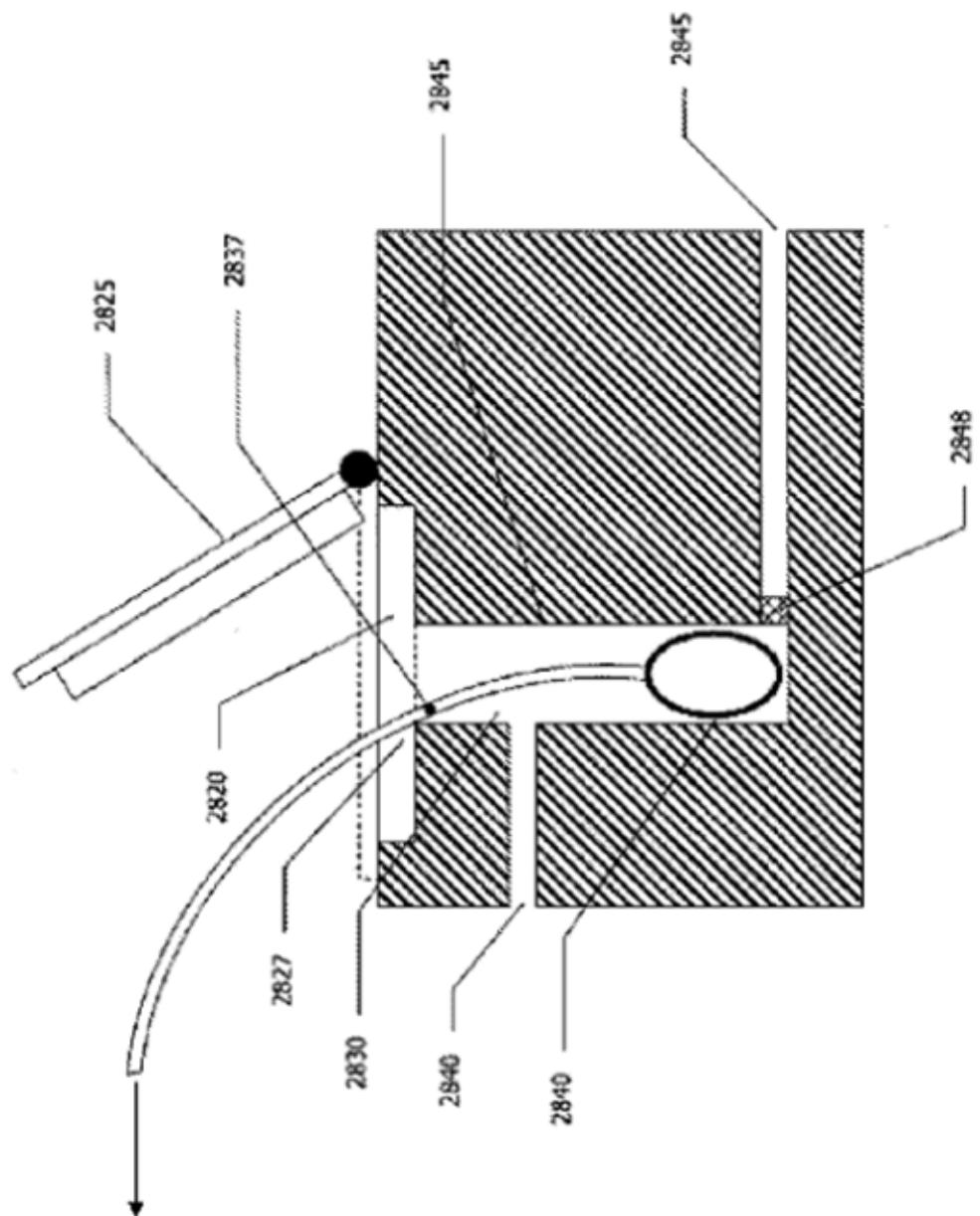


Fig. 28

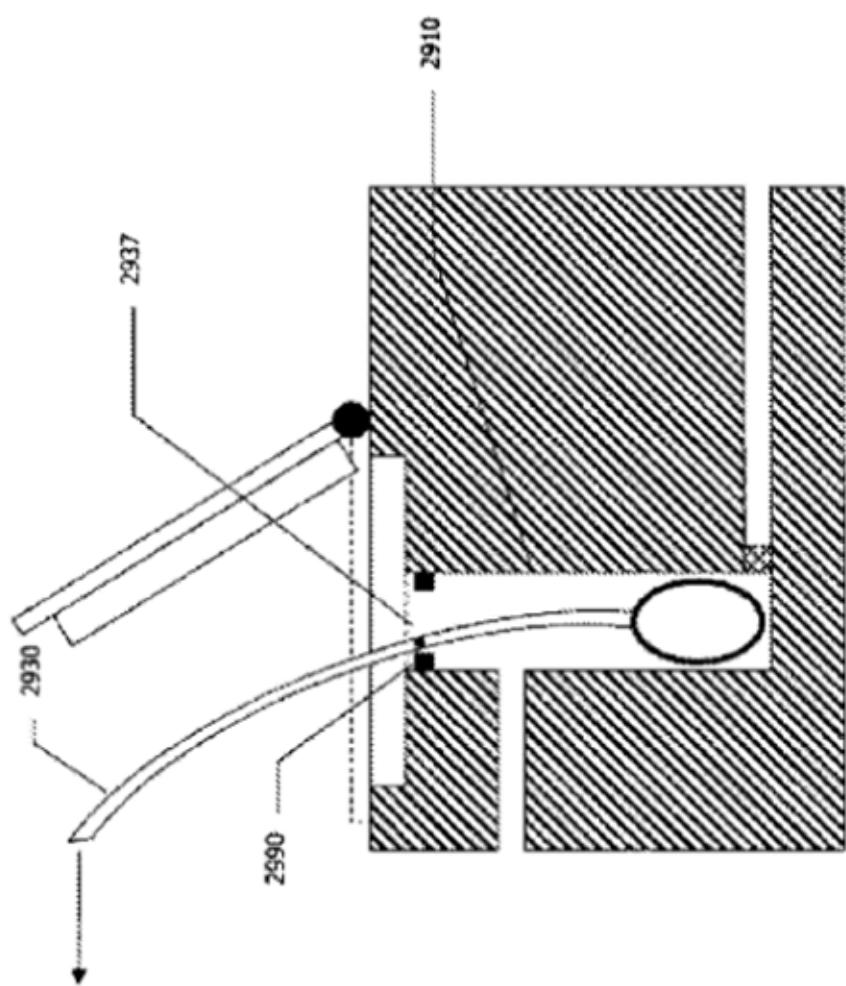


Fig. 29

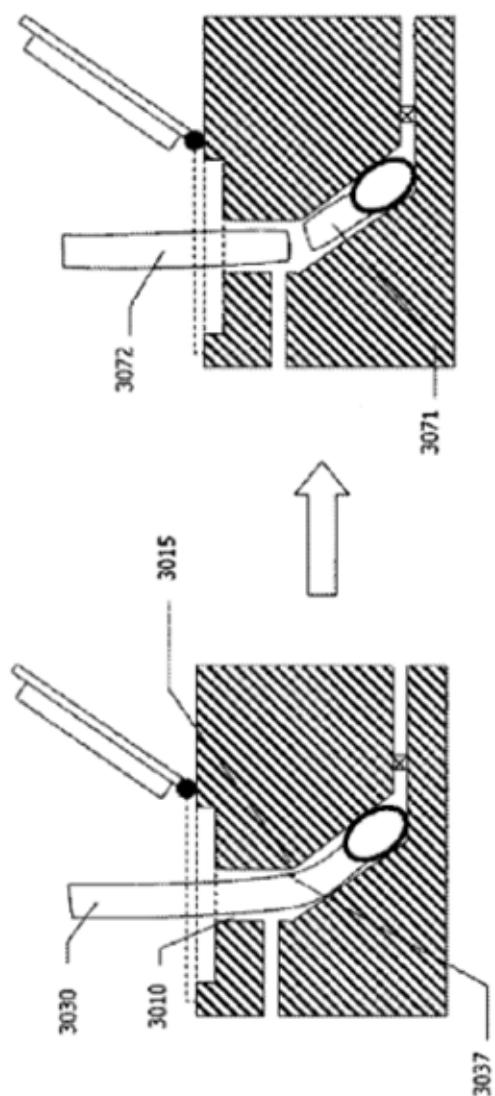


Fig. 30

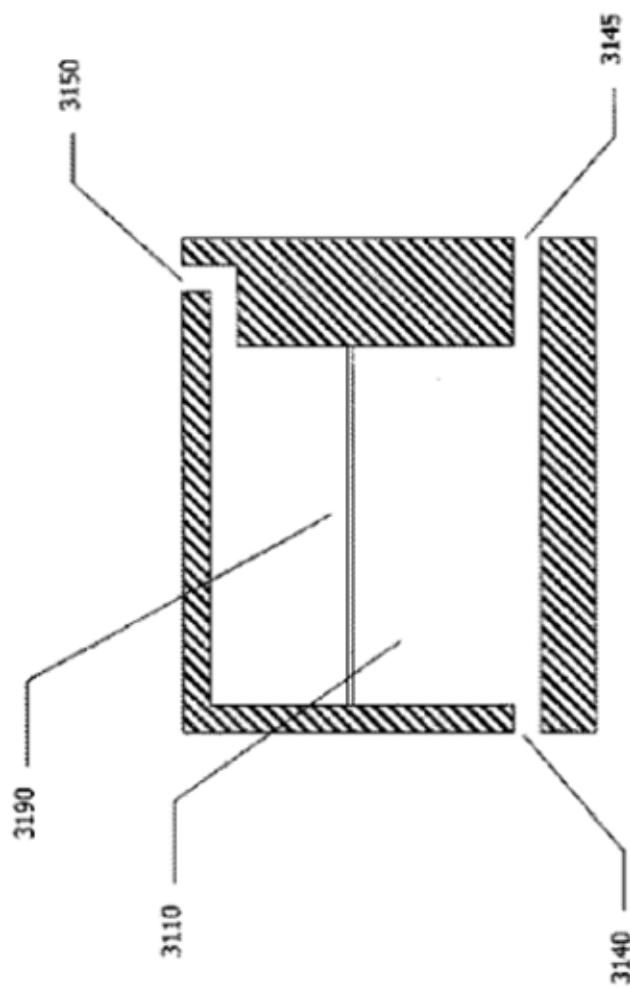


Fig. 31

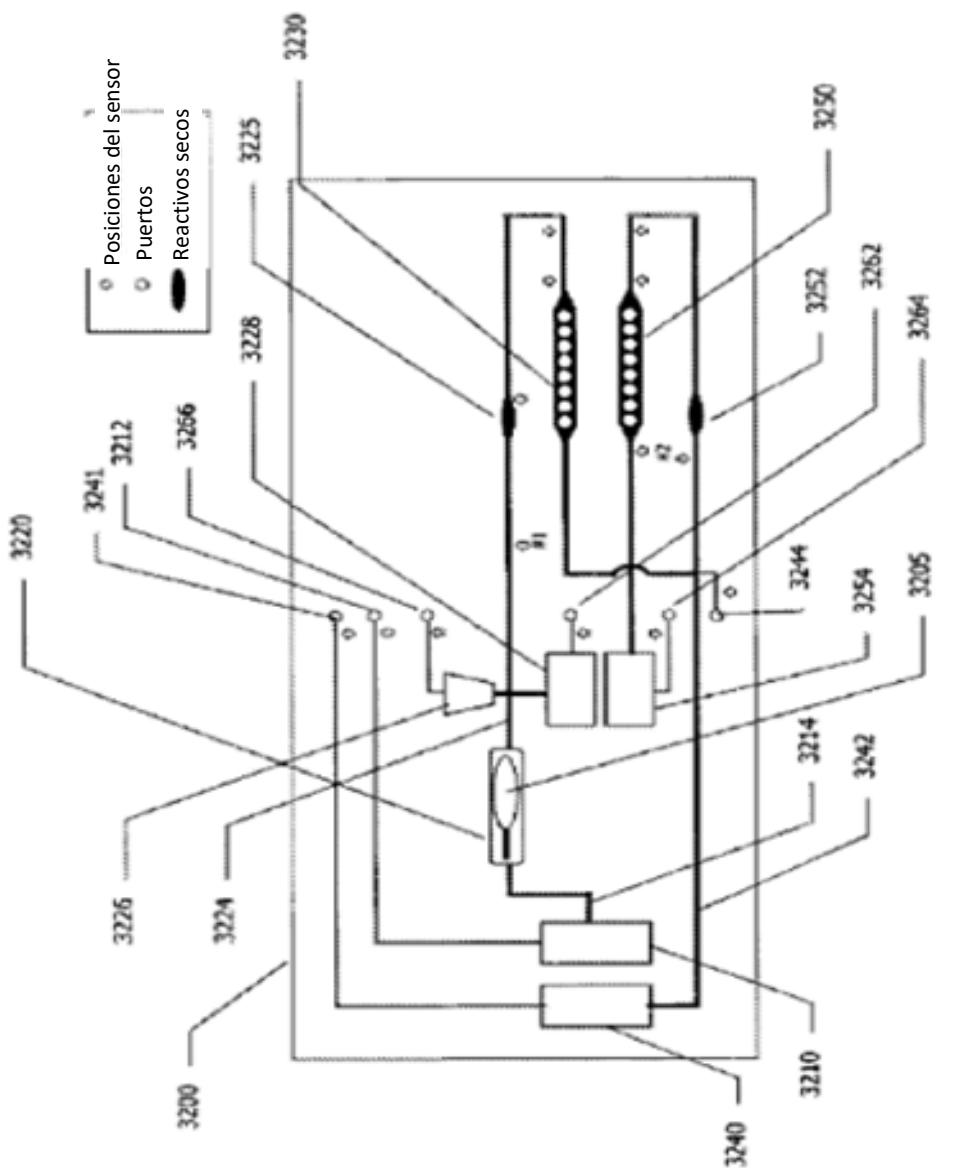


Fig. 32

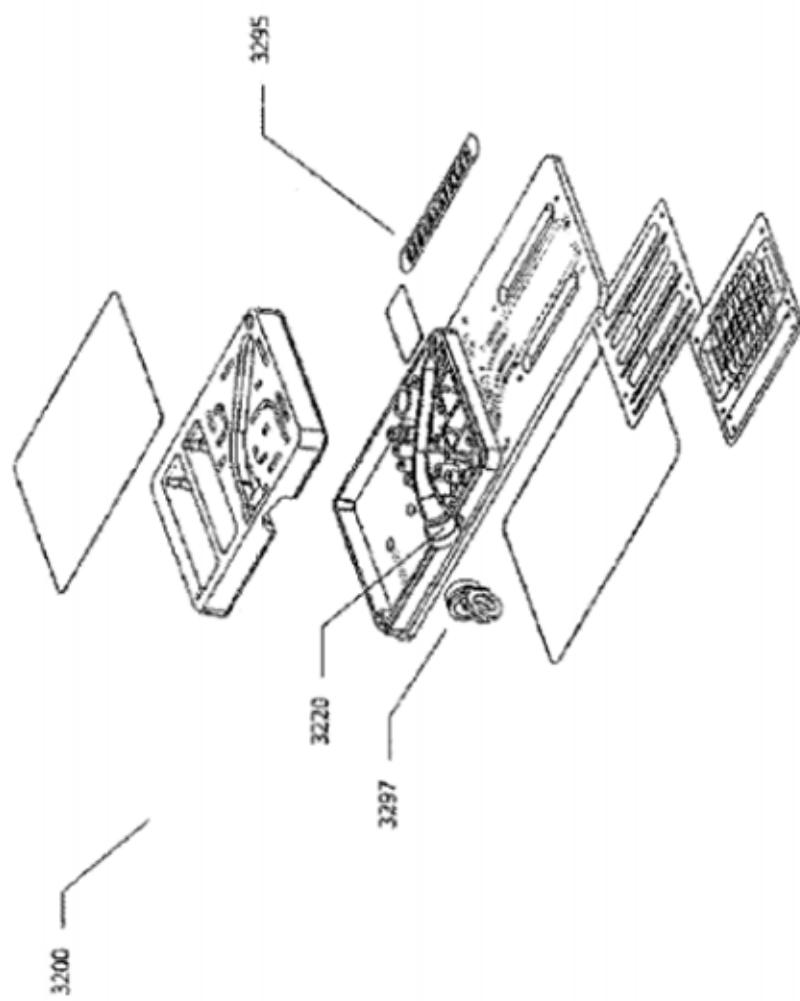


Fig. 33

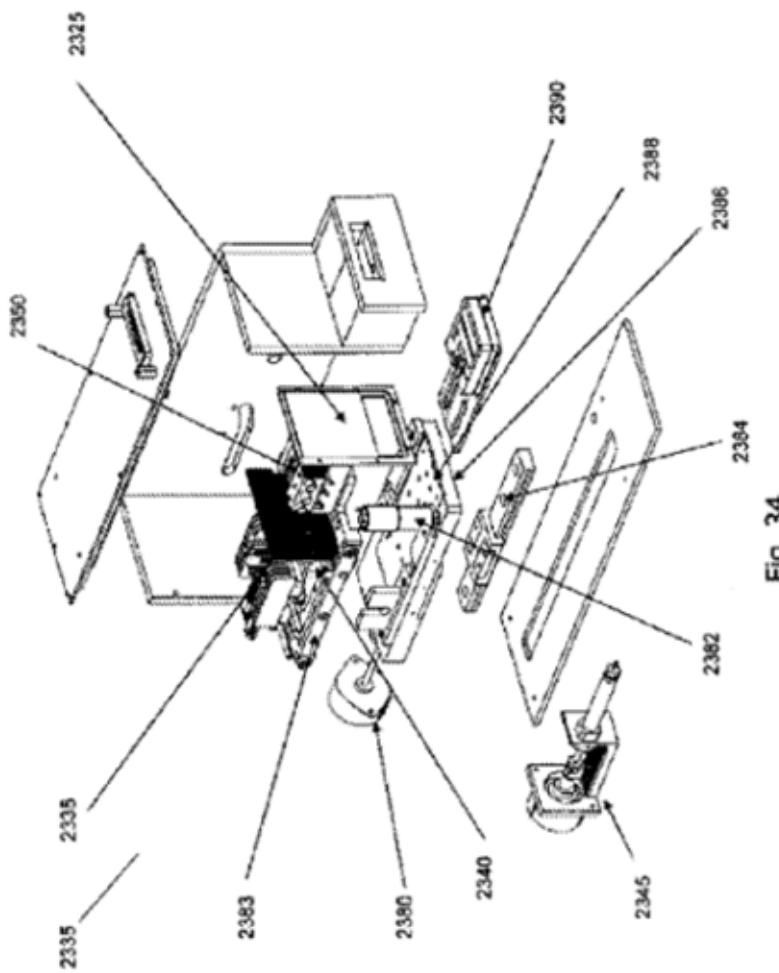


Fig. 34

2391

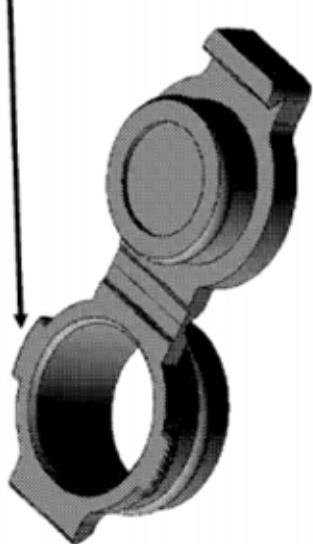


Fig. 35A

3500

2392

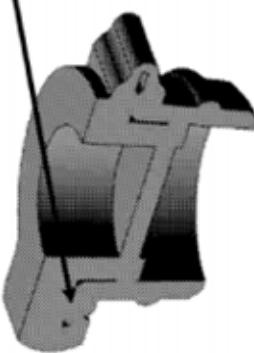


Fig. 35B

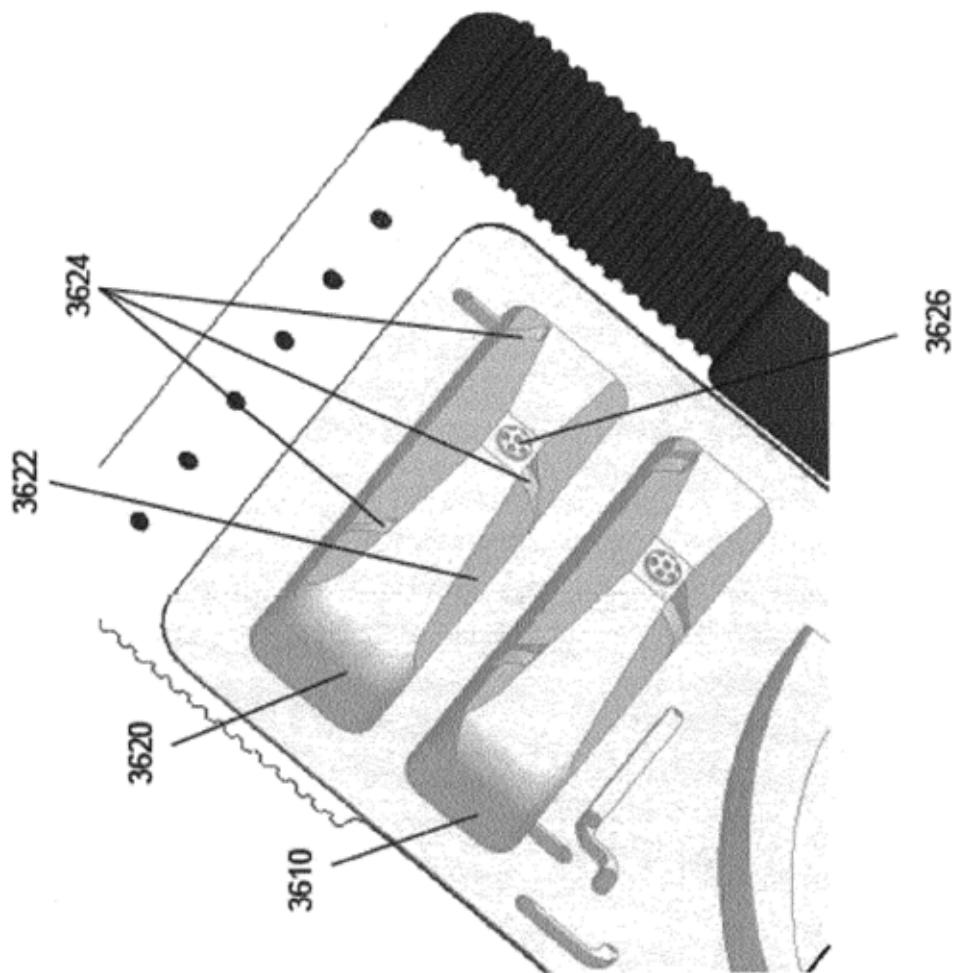


Fig. 36

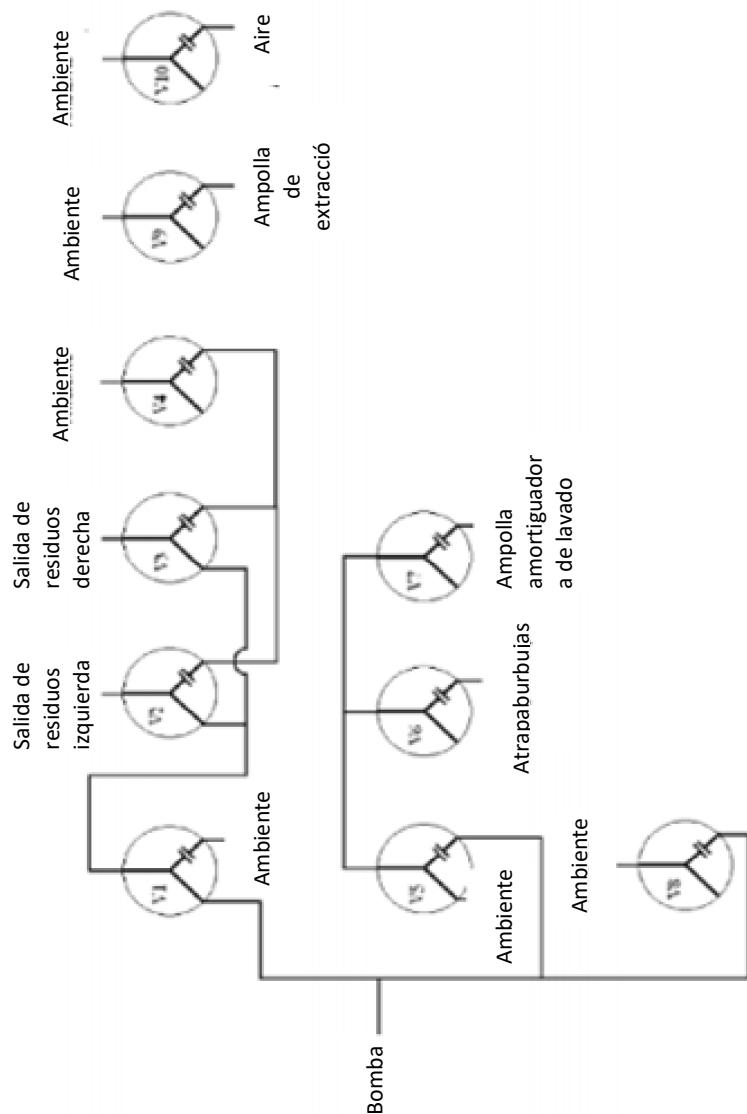


Fig. 37(a)

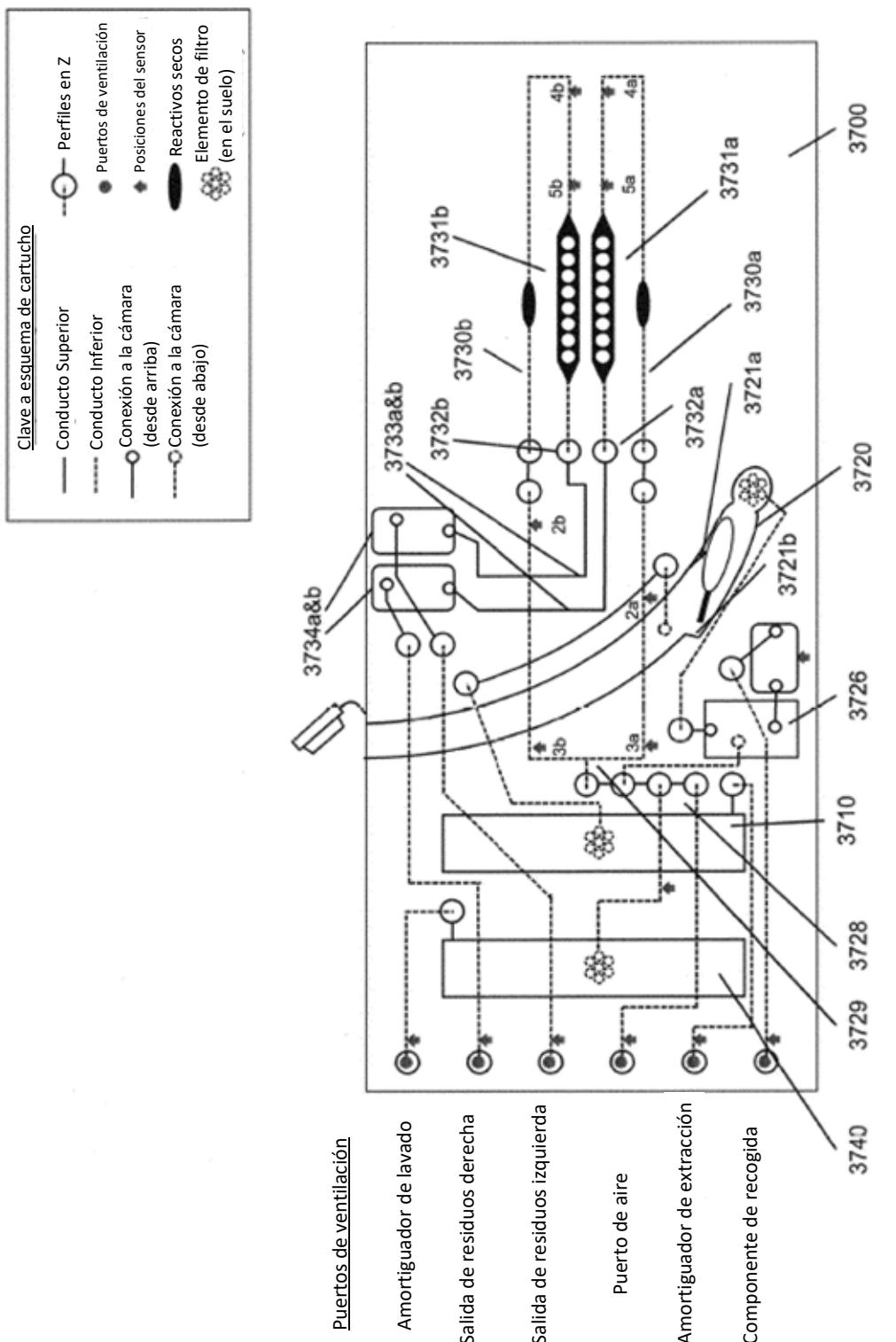


Fig. 37(b)

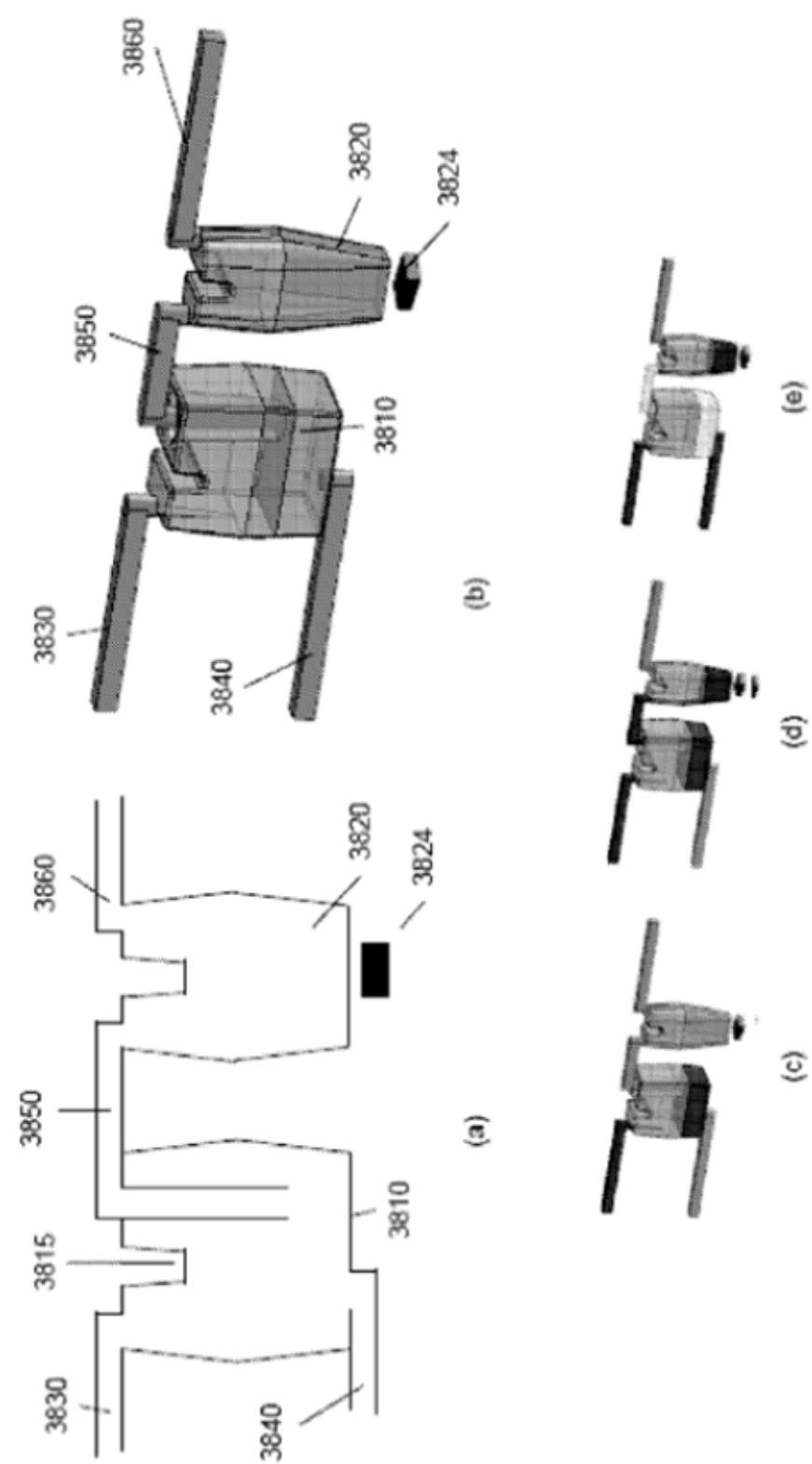


Fig. 38

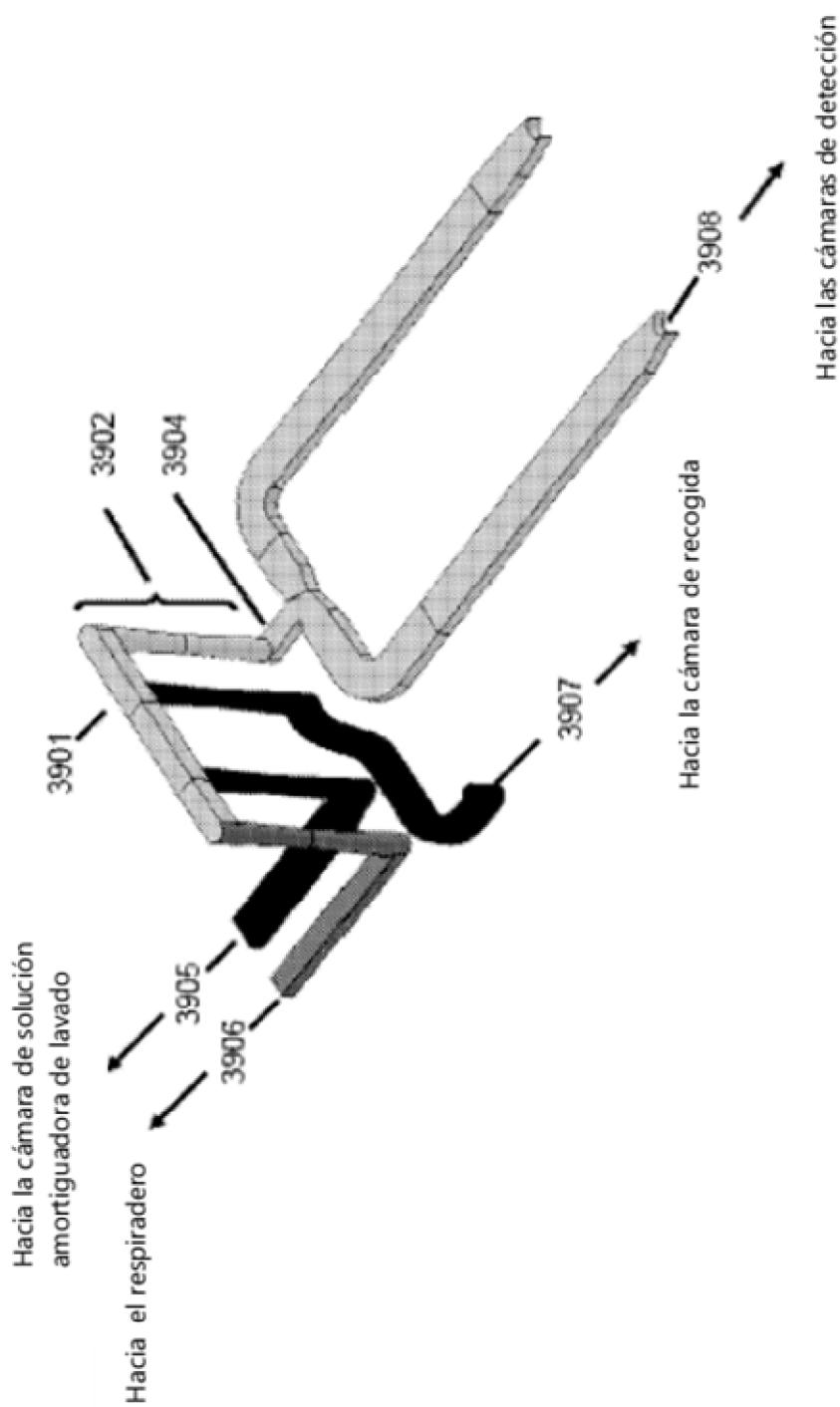


Fig. 39

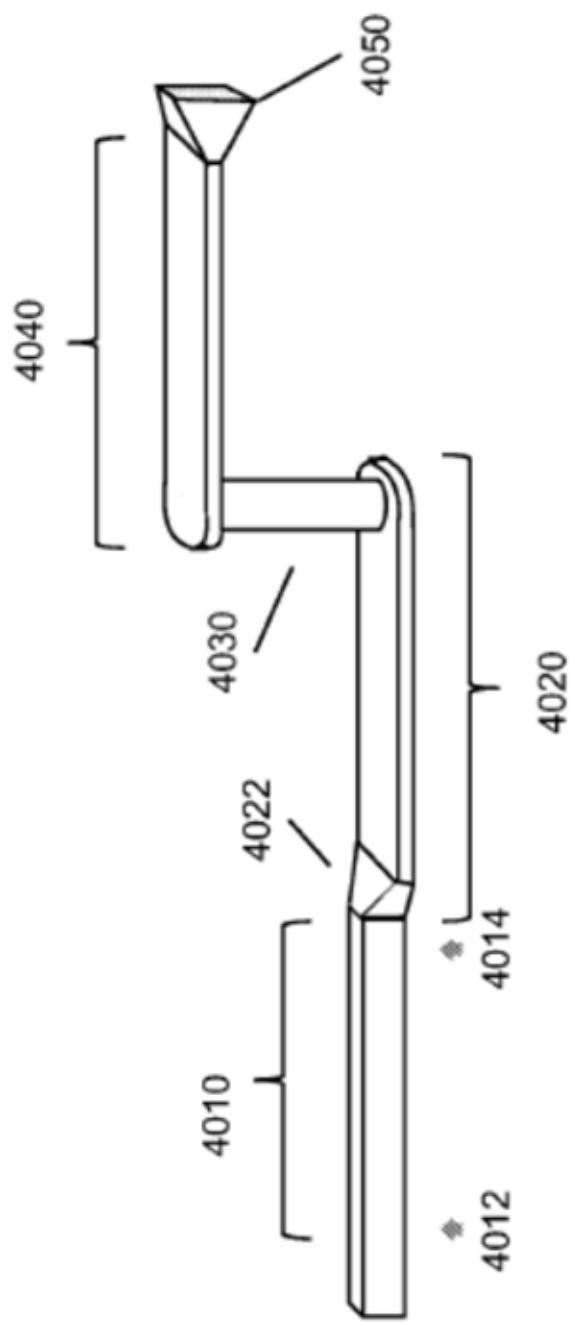


Fig. 40

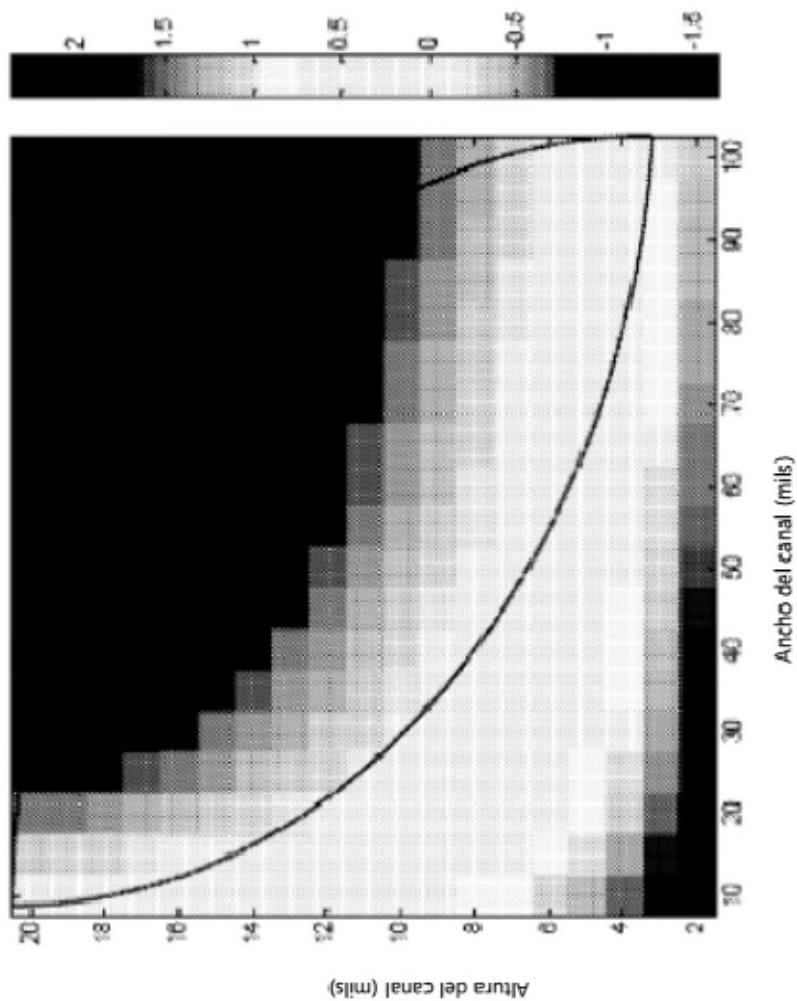


Fig. 41(a)

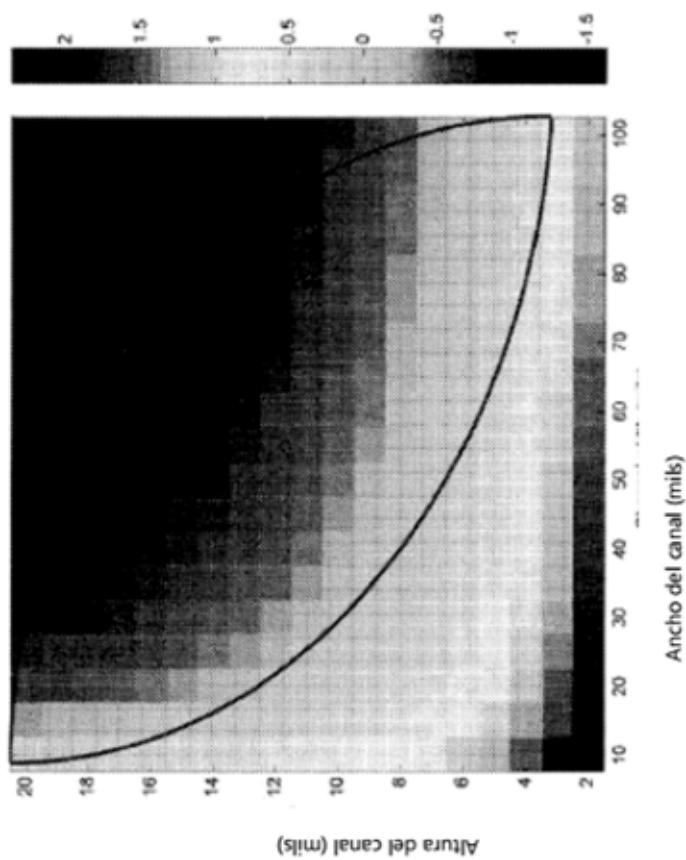


Fig. 41(b)

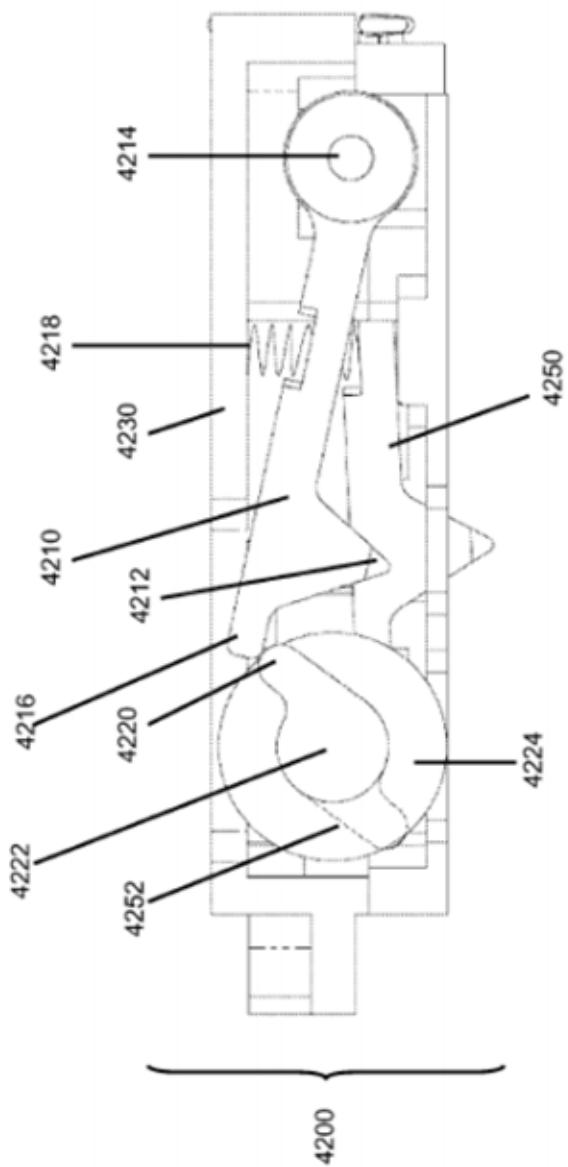


Fig. 42

4300

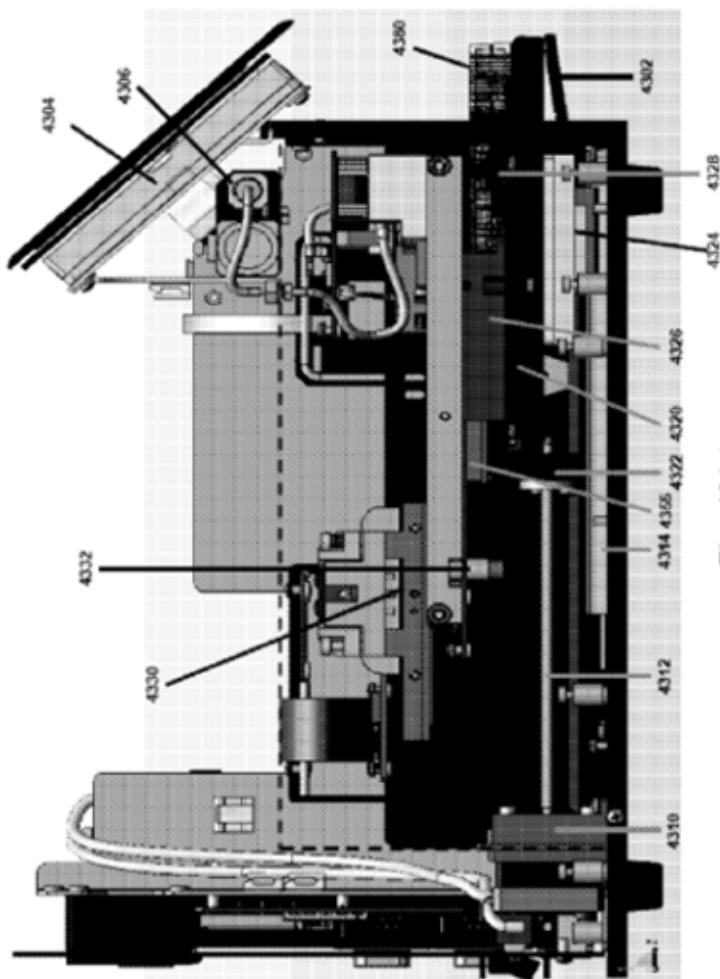


Fig. 43(a)

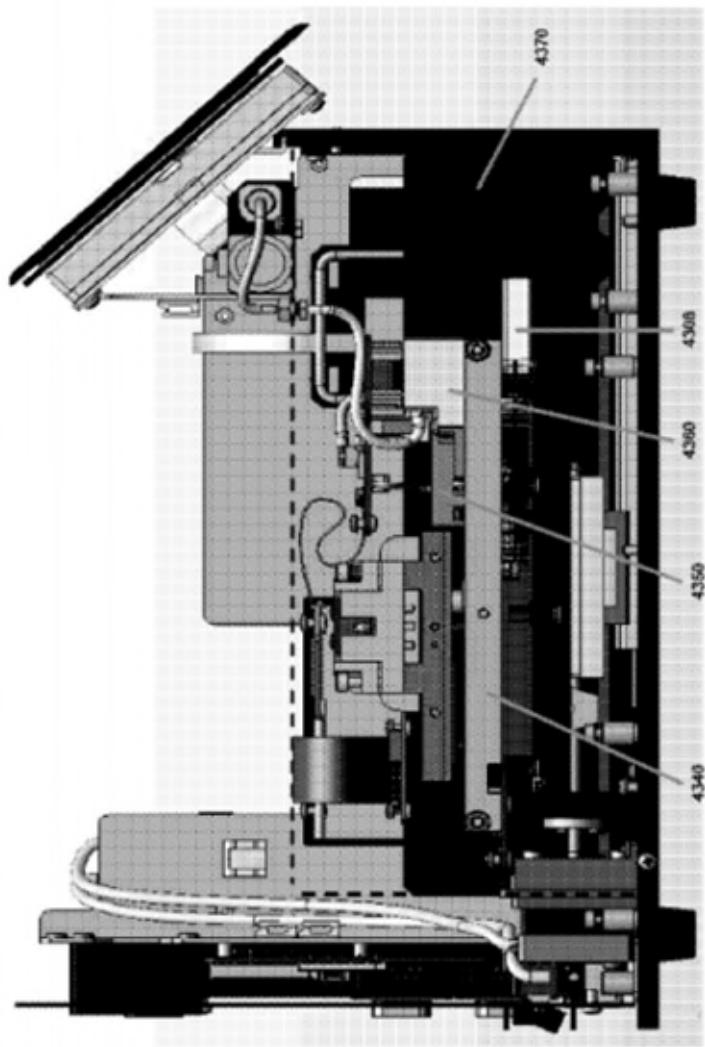


Fig. 43(b)

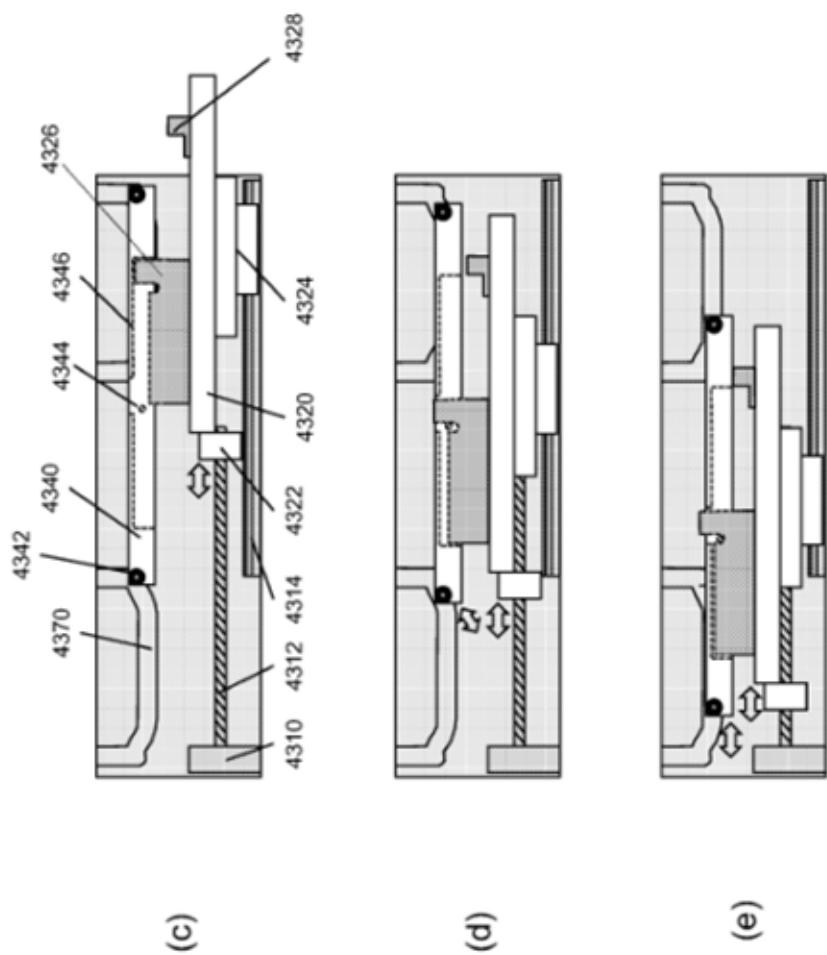


Fig. 43

4300

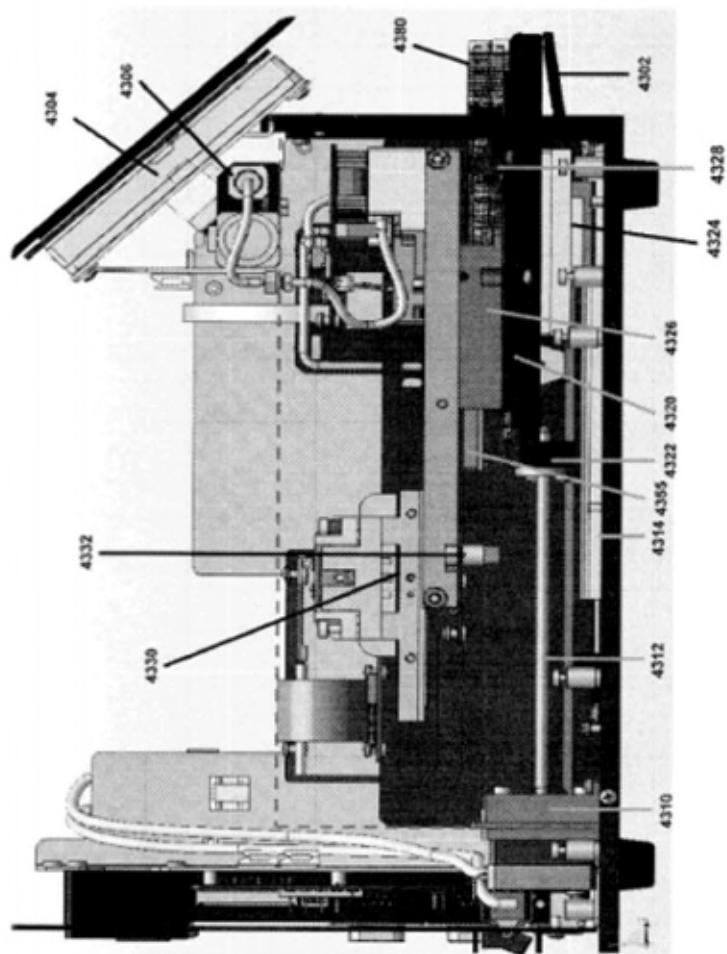


Fig. 43(f)

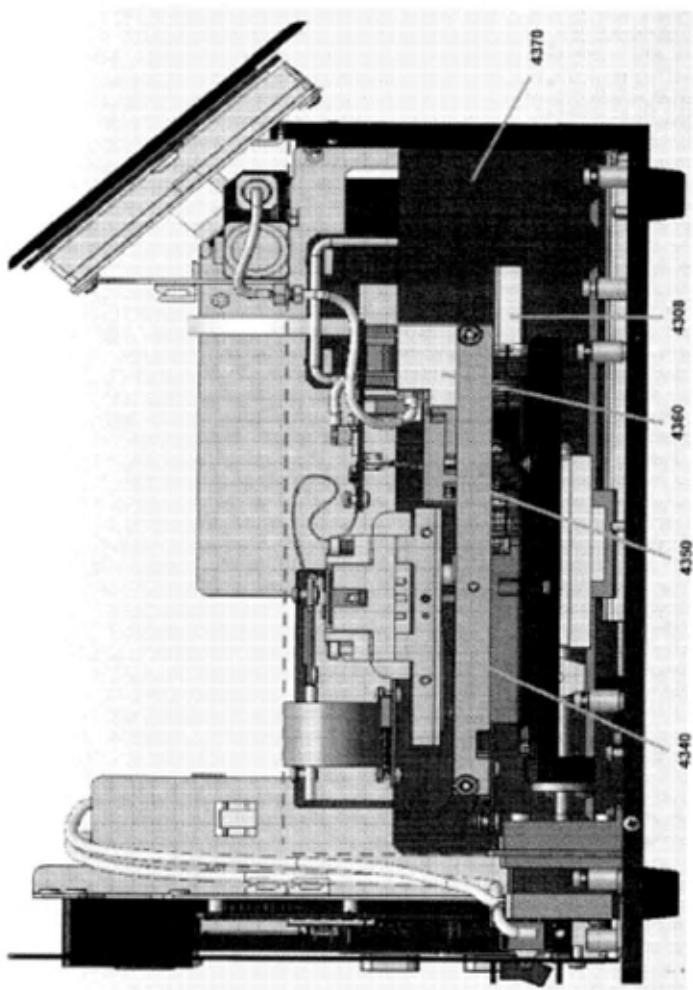


Fig. 43(g)

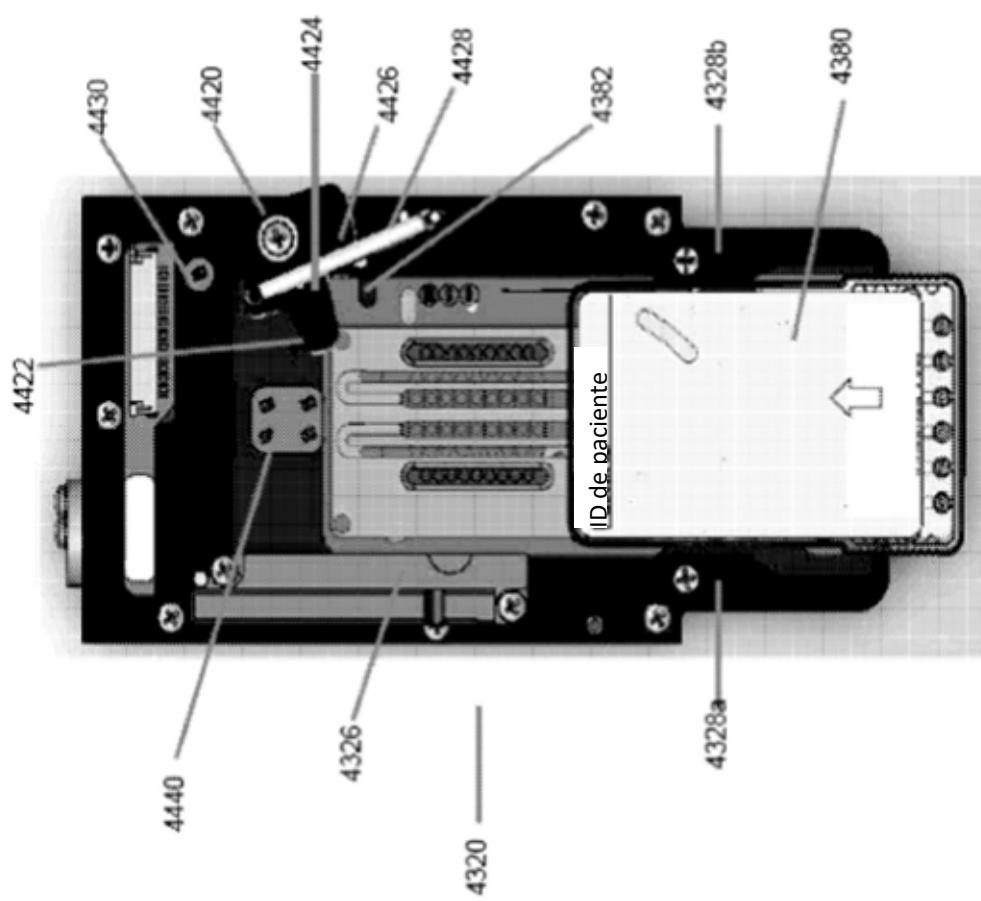


Fig. 44(a)

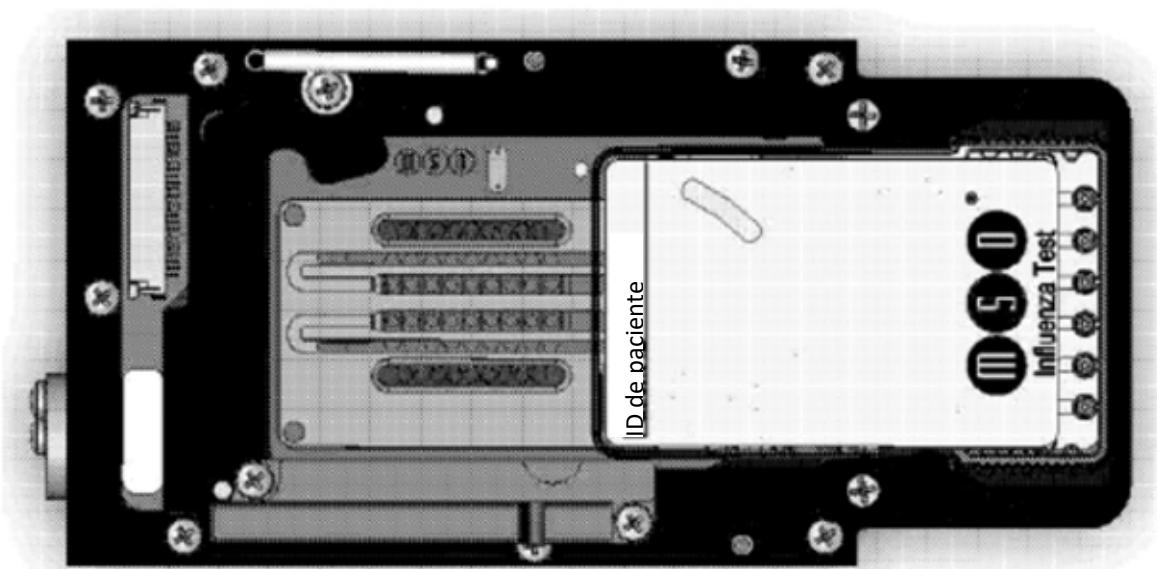


FIG. 44(b)

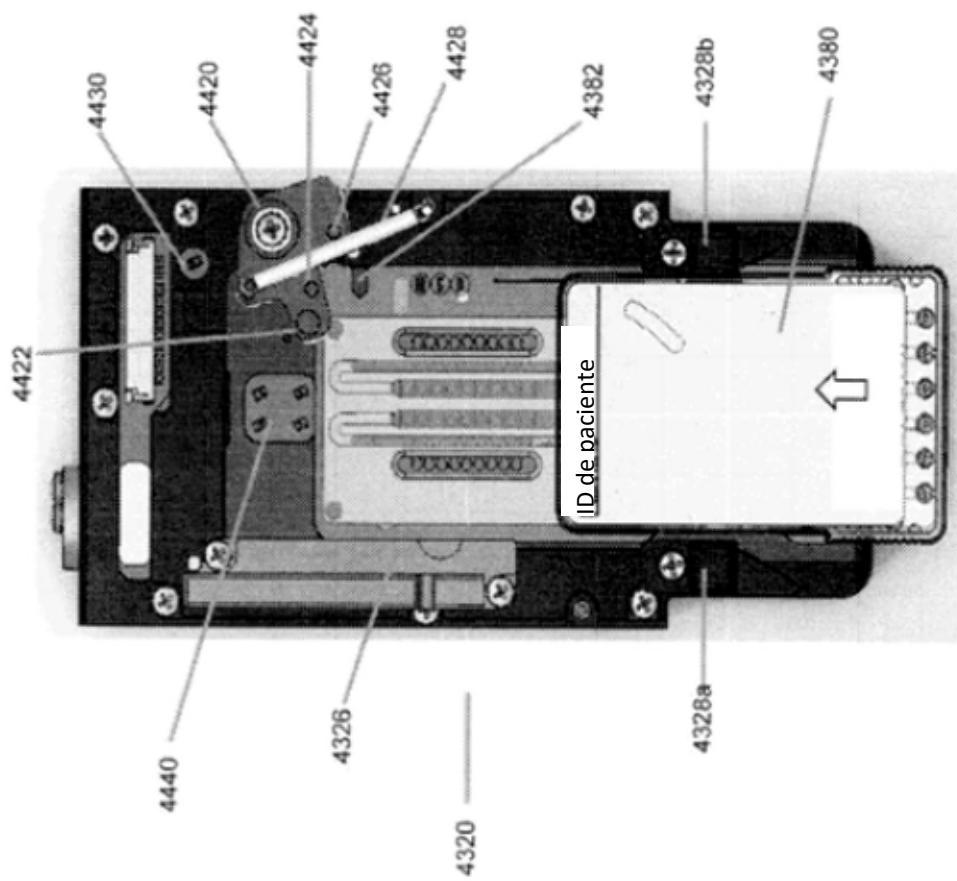


Fig. 44(c)

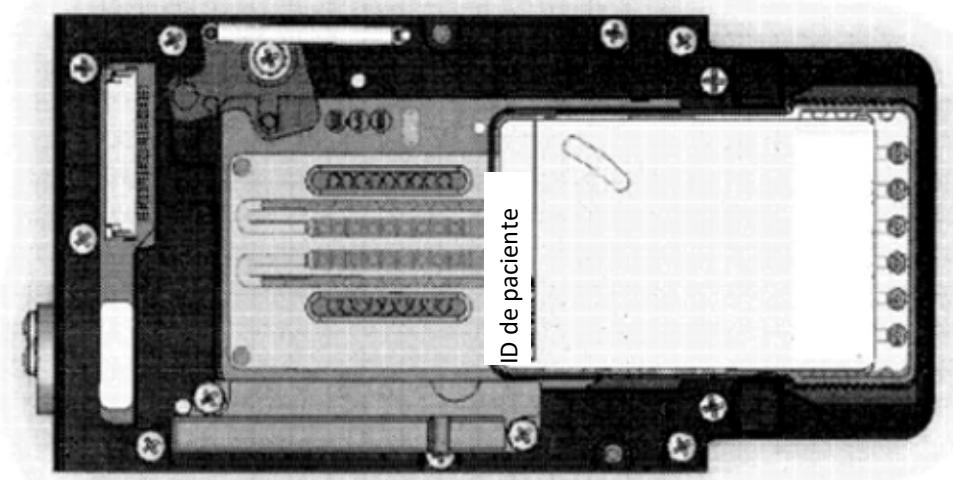


Fig. 44(d)

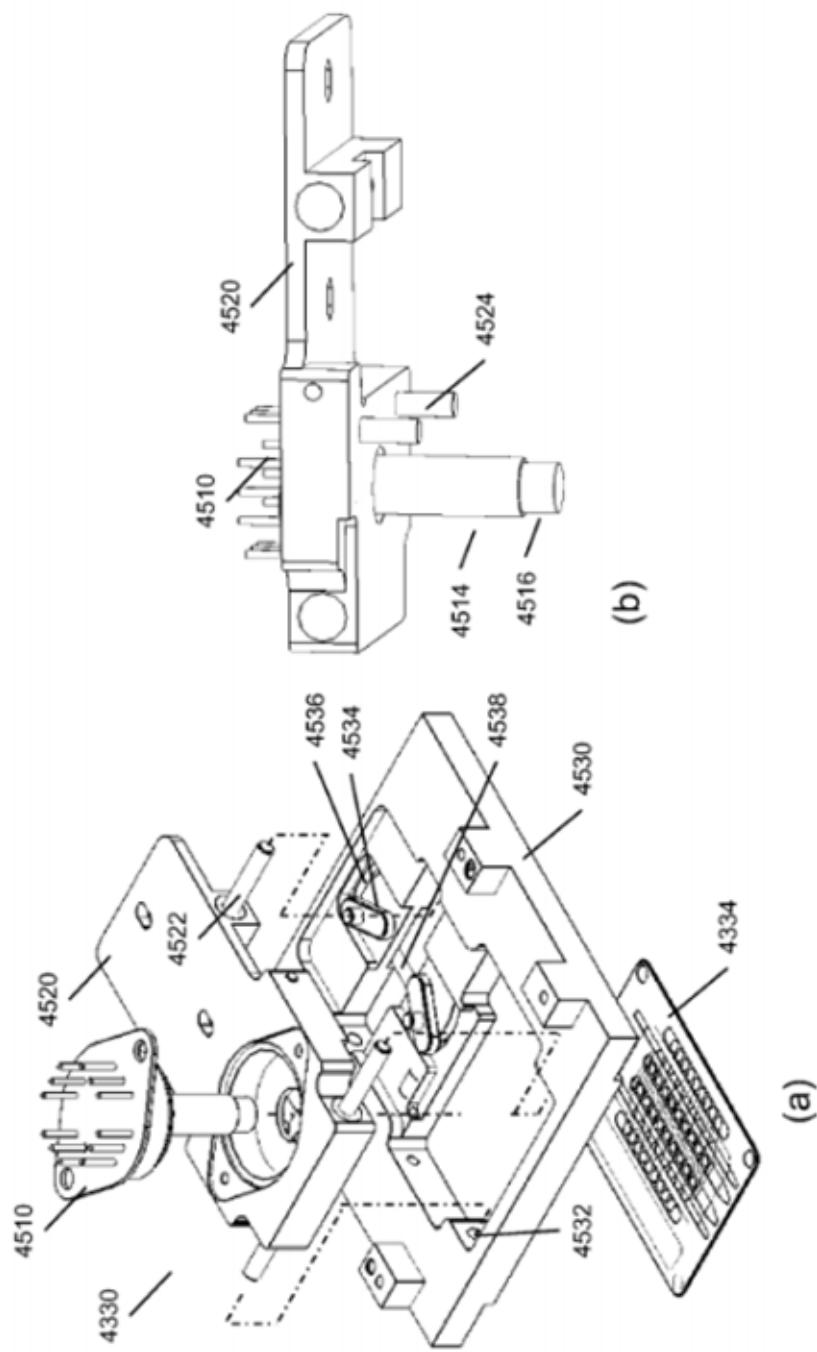


Fig. 45

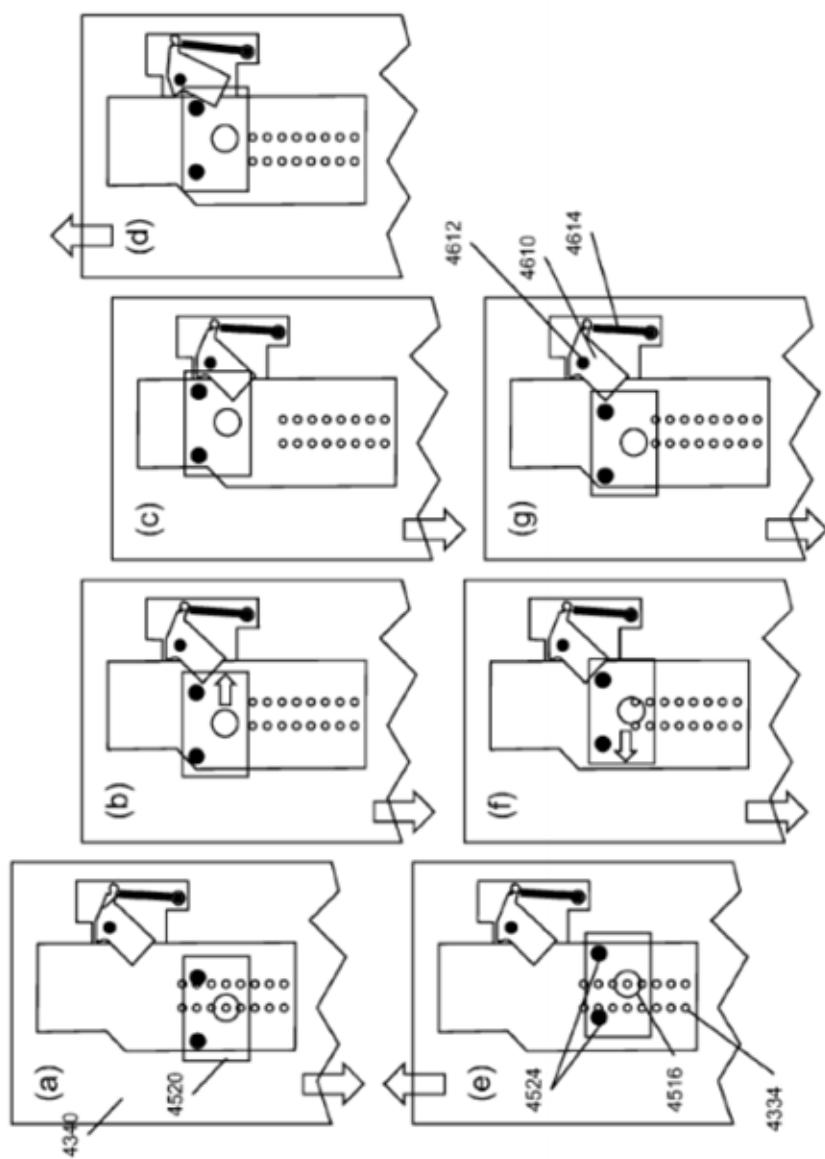


Fig. 46

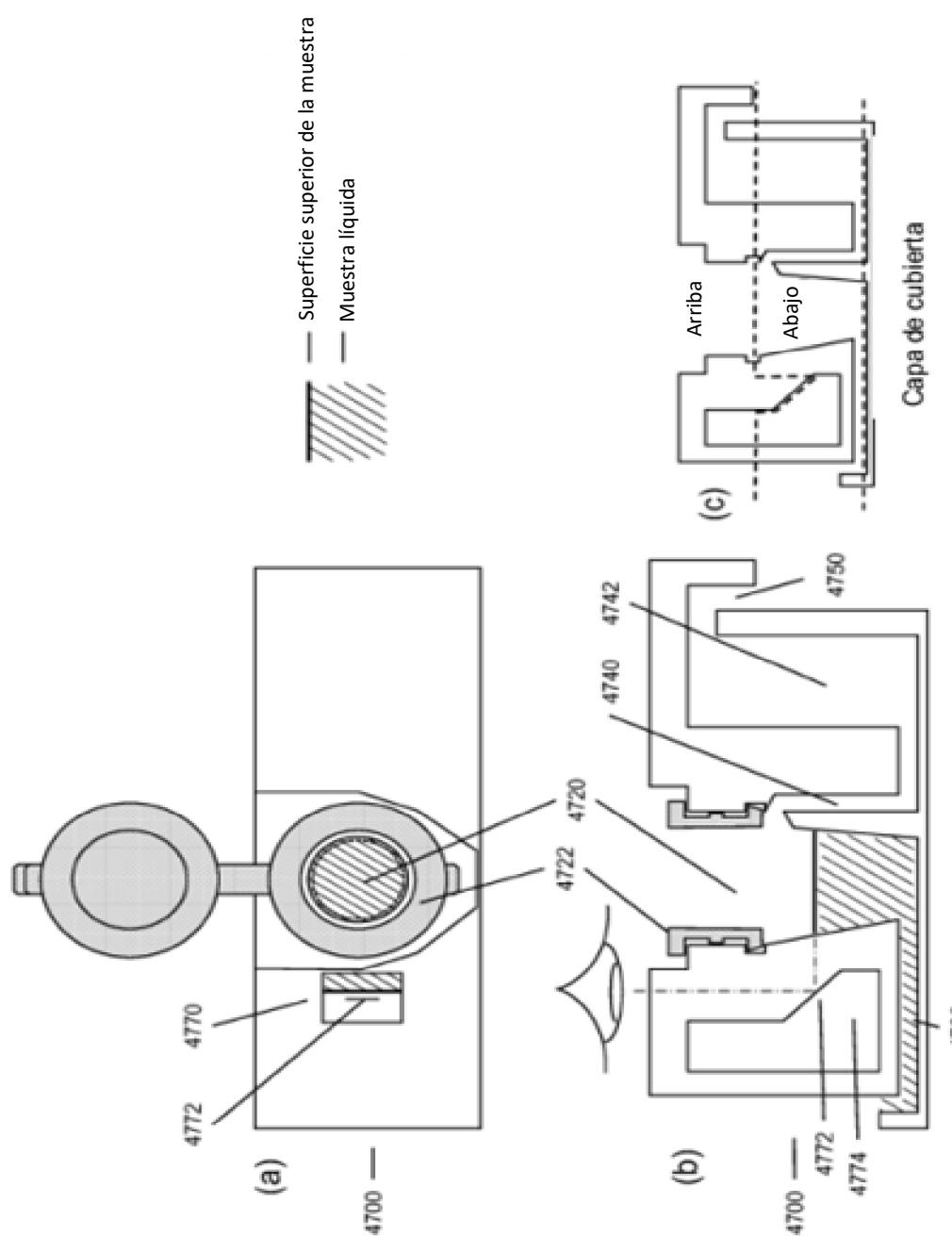


Fig. 47